

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Marcela Kotasová

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ CHINOXALINU
NA RTUŤOVÝM MENISKEM MODIFIKOVANÉ
STŘÍBRNÉ PEVNÉ AMALGÁMOVÉ ELEKTRODĚ

Voltammetric Determination of Quinoxaline
at a Mercury Meniscus Modified Silver Solid
Amalgam Electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Praha 2013

Tato bakalářská práce vznikla v rámci Univerzitního výzkumného centra UNCE 204018/304018/2012 v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM 0021620857. Poděkování za její finanční podporu patří Grantové agentuře České republiky (projekt P206/12/G151).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 24.8.2013

Poděkování

V úvodu bych chtěla poděkovat svému školiteli RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za odborné vedení, trpělivost a cenné připomínky k mé práci, dále pak Mgr. Evě Horákové a Mgr. Andree Hájkové a ostatním členům Katedry analytické chemie za pomoc a ochotu. Mé poděkování patří též rodičům, kteří mi umožnili studium na vysoké škole, a mým přátelům za všestrannou podporu.

Abstrakt

Cílem této bakalářské práce bylo vypracovat citlivé, levné a časově nenáročné voltametrické metody pro stanovení chinoxalinu. Za tímto účelem byly použity techniky DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV) na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE). Optimalizace se skládala z hledání vhodného prostředí a vhodné regenerace elektrodového povrchu. Optimálním prostředím pro stanovení chinoxalinu bylo prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o pH 13,0 a bylo také zjištěno, že u obou technik je vhodné použití regeneračních potenciálů $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$ pro očištění povrchu elektrody.

Koncentrační závislosti byly proměřeny v rozmezí $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ chinoxalinu. Přes všechny koncentrační řády byla závislost nelineární, ale bylo možné ji s vysokou korelací proložit polynomem druhého řádu. Dosažené meze stanovitelnosti (L_Q) byly $8,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (DCV – vyhodnocována výška píku), $3,9 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (DPV – vyhodnocována výška píku) a $2,8 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (DPV – vyhodnocována plocha píku). Spektrofotometrické stanovení chinoxalinu, které bylo provedeno jako srovnávací, poskytovalo dva píky s vlnovou délkou jejich maxim 234 nm, pro kterou L_Q byla $2,4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$, a 314 nm s dosaženou hodnotou $L_Q 9,4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.

Abstract

The aim of this Bachelor Thesis was to develop sensitive, inexpensive, and less time-consuming voltammetric methods for the determination of quinoxaline. For this purpose, DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV) at a mercury meniscus modified silver solid amalgam electrode (m-AgSAE) were used. The optimization consisted of finding a suitable medium and a suitable regeneration of the electrode surface. The optimal medium for the determination of quinoxaline was a solution of the Britton-Robinson buffer of pH 13,0, and it was also found that for both techniques, it is advisable to use regeneration potentials $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV for the cleaning of the electrode surface.

Concentration dependences were measured in the concentration range of $1 \cdot 10^{-7}$ – $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ of quinoxaline. Over all concentration ranges, the dependences were non-linear, however, it was possible to fit them with a high correlation using a polynomial function of the second order. The limits of quantification (L_Q) reached were 8.2×10^{-7} mol.L⁻¹ (DCV – evaluated the peak height), 3.9×10^{-7} mol.L⁻¹ (DPV – evaluated the peak height), and 2.8×10^{-7} mol.L⁻¹ (DPV – evaluated the peak area). The spectrophotometric determination of quinoxaline, which was performed for a comparison, provided two peaks with the maxima at wavelengths of 234 nm ($L_Q = 2.3 \times 10^{-7}$ mol.L⁻¹) and 314 nm ($L_Q = 9.4 \times 10^{-7}$ mol.L⁻¹)

Klíčová slova

DC voltametrie

Diferenční pulzní voltametrie

Chinoxalin

Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda

Key words

Direct Current Voltammetry

Differential Pulse Voltammetry

Quinoxaline

Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode

Seznam použitých zkratk a symbolů

λ	vlnová délka (nm)
A	absorbance (AU)
$BR\ puf\bar{r}$	Brittonův-Robinsonův pufr
c	molární koncentrace (mol.L^{-1})
CNS	centrální nervová soustava
DCV	DC voltametrie (voltametrie s lineárním nárůstem potenciálu)
DPV	diferenční pulzní voltametrie
E	potenciál (mV)
E_p	potenciál píku (mV)
E_{reg}	regenerační potenciál (nA)
E_{in}	počáteční potenciál regenerace (mV)
E_{fin}	konečný potenciál regenerace (mV)
I	proud (nA)
I_p	proud (výška) píku (nA)
$I_{\bar{s}}$	proud (šum) pozadí (nA)
l	délka kyvety (cm)
LQ	mez detekce
$m\text{-}AgSAE$	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
n	počet měření
s	směrodatná odchylka
s_r	relativní směrodatná odchylka (%)
SPE	extrakce tuhou fází
$UV\text{-}VIS$	ultrafialová-viditelná oblast elektromagnetického záření
ν_E	rychlost polarizace (mV.s^{-1})

Obsah

1. Úvod	9
1.1. Cíl práce	9
1.2. Studovaná látka	9
1.3. Deriváty chinoxalinu	11
1.4. Pracovní elektroda	12
1.5. Použité techniky	14
2. Experimentální část	15
2.1. Chemikálie	15
2.2. Aparatura	15
2.3. Pracovní postupy	16
3. Voltametrické stanovení chinoxalinu na m-AgSAE	18
3.1. DC voltametrie	18
3.1.1. Vliv pH	18
3.1.2. Vliv rychlosti nárůstu potenciálu	21
3.1.3. Opakovatelnost	22
3.1.4. Koncentrační závislost	24
3.2. DP voltametrie	29
3.2.1. Vliv pH	29
3.2.2. Vliv rychlosti nárůstu potenciálu	31
3.2.3. Opakovatelnost	32
3.2.4. Koncentrační závislost	33
4. Spektrofotometrické stanovení chinoxalinu	39
5. Závěr	42
6. Literatura	43

1. Úvod

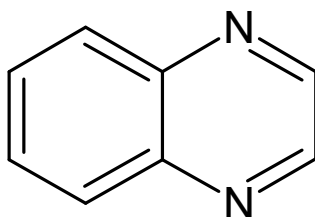
1.1. Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo nalezení optimálních podmínek pro stanovení chinoxalinu technikou DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV) na rtuťovým meniskem modifikované štiřbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE) a vyvinutí odpovídajících metodik, které by měly v budoucnu sloužit jako alternativní metody pro stanovení chinoxalinových derivátů vznikajících při Hinsbergových reakcích. Spektrofotometrické stanovení bylo zvoleno pro srovnání.

1.2. Studovaná látka

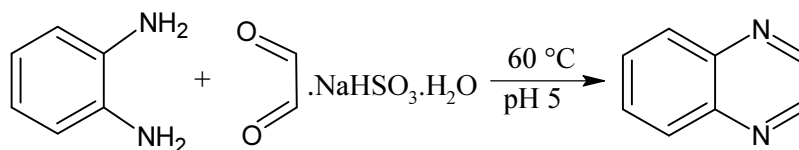
Chinoxalin se skládá z benzenového a pyrazinového jádra. Čistá látka je krystalická, světle žlutá až hnědá, dobře rozpustná ve vodě s rozpustností $1,124 \text{ g.mL}^{-1}$ (25°C). IUPAC název je chinoxalin, další názvy jsou například 1,4-benzodiazine či benzopyrazin. Chinoxalin dráždí oči, kůži a dýchací orgány [1]. Strukturní vzorec je na obrázku 1.

CAS number:	91-19-0
Empirický vzorec:	$\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2$
Molekulová hmotnost:	$130,15 \text{ g.mol}^{-1}$
Bod varu:	$220\text{-}223^\circ\text{C}$
Bod tání:	$29\text{-}32^\circ\text{C}$
Bod vzplanutí (v kelímku):	98°C



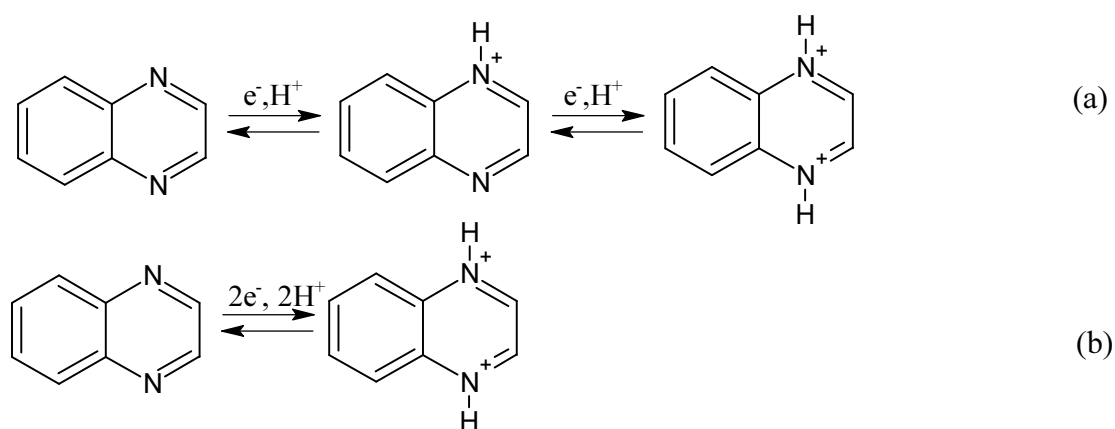
Obr. 1: Strukturní vzorec chinoxalinu

Chinoxalin lze připravit syntézou z *o*-fenyldiaminu s ethandialhydrogen-siřičitanem sodným [2], [3](obrázek 2).



Obr. 2: Syntéza chinoxalinu

Při celkové redukci chinoxalinu by mohl vznikat až 1,2,3,4-terahydrochinoxalin [4]. Pomocí reakce s In^{I} v kyselém prostředí bylo zjištěno, že dochází ke dvěma kineticky oddělitelným radikálovým reakcím (QH^\bullet , $\text{QH}_2^{+\bullet}$) a přeměněna na produkty je závislá na koncentraci vodíkových iontů [5]. Elektrochemické chování chinoxalinu bylo již dříve zkoumáno na rtuťové kapající elektrodě. Předpokládá se, že při nižších pH probíhá elektrochemická redukce v jednom kroku (obrázek 3b), kdežto u vyšších pH by reakce, díky menší koncentraci H^+ iontů mohla probíhat ve dvou krocích (obrázek 3a) [6]. Absorpční spektrum chinoxalinu určují intramolekulární přechody $n\text{-}\pi^*$ a $\pi\text{-}\pi^*$ [7].



Obr. 3: Předpokládané elektrochemické chování chinoxalinu

1.3. Deriváty chinoxalinu

Sloučeniny odvozené od chinoxalinu mají z hlediska biologických účinků velmi zajímavé vlastnosti [8]. Specifické deriváty vzniklé reakcemi s *o*-fenyldiaminem mají uplatnění v analytické chemii.

Nízké dávky antibakteriálního chinoxalin-1,4- dioxinu a jeho derivátů se používaly přes 40 let pro podporu růstu hospodářských zvířat (tělesná váha se zvedla o 4-5 %). Látky snižují či jinak ovlivňují jejich vnitřní mikroflóru, a umožňují tím vstřebávat více živin [9].

Mnoho chinoxalinových derivátů má insekticidní a antimikrobiální vlastnosti. Působí také proti prvokům, kvasinkám a virům [8]. Deriváty obsahující síru jsou jedny z nejvíce selektivních synteticky připravených jedů proti roztočům [10]. Strukturní analog od rostlinného alkaloidu chinolinu zase působí proti parazitickému prvoku rodu *Leishmania* [11], který se vyskytuje v tropické a subtropické oblasti a způsobuje nemoc leishmaniózu, na kterou se používala léčiva s velkými vedlejšími účinky [12]. Některé z chinoxalin-2-karboxoamid a chinoxalin-1,4-di-N-oxid derivátů mají inhibiční účinek proti kmenu *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv [13], [14]. Další mají silnou antivirovou aktivitu proti několika druhům herpes virů jako například proti *Herpes simplex viru 1*, do jehož DNA se naváží a blokují kroky potřebné k rozbalení viru [15]. Několik derivátů má vlastnosti způsobující inhibici reverzní transkriptázy viru HIV [16].

Některé deriváty chinoxalin-1,4-di-N-oxidu byly popsány jako potenciální bioreduktivní látky. Jsou aktivovány na cytotoxickou formu v hypoxickém prostředí poškozených buněk, v přítomnosti kyslíku zase přecházejí na netoxickou formu [17]. Několik málo derivátů účinkuje na velkou řadu nádorových buněk [18]. Aktivita proti dané skupině buněk závisí obecně na struktuře [19], 5,7-diamino-3-fenol-2-anilin substituenty chinoxalinu se vykazují silnou aktivitou proti nádorovým buňkám leukemie, CNS nádorům, melanomům a dalším [20].

Pro analýzu látek se strukturou R₁-CO-CO-R₂ [21] je možnost využití Hinsbergovy reakce s *o*-fenyldiaminem za vzniku příslušných chinoxalinových derivátů [16]. Mezi tyto látky patří α -ketokyseliny či pyruvát, klinicky a biologicky důležité sloučeniny. Pro reakci se ze vzorku (pivo, víno či krev) extrahují pomocí SPE a

následně se analyzují pomocí vysokotlaké kapalinové chromatografie s UV spektrofotometrickou detekcí [21], [22]. Voltametrické metody byly zvoleny jako možnost zkrácení času analýzy a snížení meze detekce.

1.4. Pracovní elektroda

Jako pracovní elektroda byla použita rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (m-AgSAE), z důvodu snadné a rychlé přípravy.

Amalgámové elektrody byly vyvinuty jako snaha nahradit kovovou rtuť, používanou v polarografii, za netoxickou náhražku. Tou se stal v čistší podobě zubní amalgám, který je považován za netoxický a bezpečnější. Amalgámové elektrody lze připravit naplněním vhodné skleněné trubičky, která obsahuje elektrodový kontakt, práškovým stříbrem či jiným kovem tvořící amalgám a následném ponoření přes noc do kapalné rtuti [23] (obrázek 4). Elektrody lze například rozdělit podle stavu povrchu na leštěné (pevná amalgámová elektroda bez kapalné rtuti; p-MeSAE), filmové (p-MeSAE pokryta rtuťovým filmem; MF-MeSAE), menisková (p-MeSAE pokryta rtuťovým meniskem; m-MeSAE), kompozitní (pracovní elektroda na bázi jemného pevného amalgámu a pevného polymeru; MeSA-CE) a další [24].

Menisková elektroda má nižší šum, lepší opakovatelnost signálu [25], vykazuje vysoké přepětí vodíku srovnatelné v některých případech s visící kapkovou rtuťovou elektrodou a oproti pevné elektrodě má hladký kapalný povrch (26). Široké potenciálové okno umožňuje měřit nejen přímou redukci analytu, ale i provádět předběžnou akumulaci vysoce elektronegativních kovů z roztoku, který obsahuje tyto kovy v podobě iontů [24].

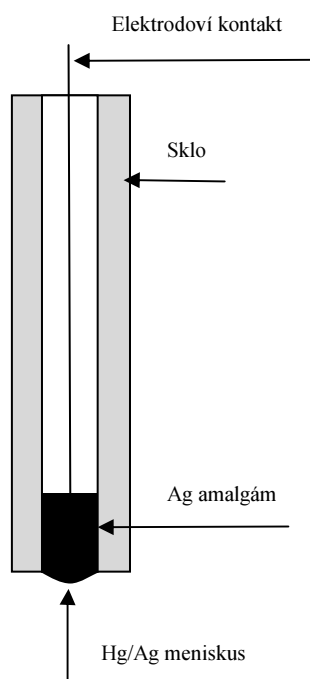
Velkým problémem meniskové elektrody je pasivace elektrodového povrchu analytem nebo některým z produktů elektrodové reakce. Pasivace způsobuje snižování odezvy elektrody. Tomuto problému se předchází některým z následujících čistících kroků [26]:

Amalgamace: Byla prováděna přibližně jednou týdně nebo při pasivaci povrchu.

Leštěná amalgámová elektroda se namočila do kapalné rtuti po dobu 20 s, nanest se nový meniskus, a tím se obnovil celkový povrch.

Aktivace: Na m-AgSAE, zapojenou v tříelektrodovém zapojení v roztoku KCl ($0,2 \text{ mol.L}^{-1}$, během aktivace promícháván), bylo vloženo napětí -2200 mV po dobu 300 s. Odstraní se tím adsorbované nečistoty z povrchu elektrody a zvýší citlivost. Aktivace byla prováděna po amalgamací a po delší době, během níž nebyla elektroda používána pro měření.

Regenerace: Na elektrodu byly střídavě vkládány po dobu 30 s (150 cyklů) regenerační potenciály E_{in} (kladnější regenerační potenciál) a E_{fin} (zápornější regenerační potenciál) s délkou pulsu 0,1 s. Hodnoty regeneračních potenciálů byly nalezeny experimentálně. Obvykle odpovídají krajům potenciálového okna.



Obr. 4: Rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná tuhá amalgámová elektroda (m-AgSAE).

1.5. Použité techniky

Při technice DC voltametrie (DCV) se na pracovní elektrodu vkládá lineárně s časem měnící se potenciál. Závislost proudu protékajícího pracovní elektrodou na vloženém potenciálu zobrazuje polarizační křivka, na které se projeví voltametrická vlna/pík analytu. Poloha vlny/píku má kvalitativní vlastnost a výška vlny je úměrná koncentraci měřené látky (kvantitativní údaj) [27].

Diferenční pulzní voltametrie (DPV) se liší od předchozí techniky v charakteru průběhu vkládaných potenciálů. Lineárně s časem se na pracovní elektrodu vkládají měnící se potenciálové pulzy o amplitudě desítek mV a době trvání desítek ms. Registruje se rozdíl proudů změřených těsně před vložením potenciálového pulzu a na jeho konci. Na polarizační křivce se tato změna projeví jako voltametrický pík. Poloha píku opět odpovídá druhu látky a výška píku je úměrná její koncentraci [27].

UV-VIS spektrofotometrie je založena na měření absorpce elektromagnetického záření molekulami látky v ultrafialové a viditelné oblasti v rozsahu vlnových délek přibližně 200 nm až 800 nm. Výsledné spektrum je pásové, protože jednotlivé přechody (vibrační, rotační, molekulové) zpravidla splývají. Jak vyplývá z Lambertova-Beerova zákona, absorbance je přímo úměrná koncentraci. K zjištění závislosti se většinou používá metoda kalibrační křivky [28].

2. Experimentální část

2.1. Chemikálie

Zásobní roztok chinoxalinu (99 %, Sigma-Aldrich.) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,01304 g v deionizované vodě (Milli-Q Plus system, Millipore) na celkový objem 100 mL. Další roztoky o nižších koncentracích byly připravovány ředěním. Zásobní roztok byl uchováván v lednici ve skleněné 100mL odměrné baňce.

Kyselá složka Brittonova-Robinsonova pufru (BR-pufr) o koncentraci $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ byla připravena rozpuštěním 2,4732 g kyseliny borité (H_3BO_3 , Penta, p.a.), 2,81 mL octové kyseliny (CH_3COOH , Lach-Ner, 80 %), 2,71 mL kyseliny fosforečné (H_3PO_4 , Lach-Ner, 85%) v 1000 mL deionizované vody. Zásaditá složka o koncentraci $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ byla připravena rozpuštěním 8 g hydroxidu sodného (NaOH , Penta, p.a.) v 1000 mL deionizované vody. Roztoky BR-pufrů o různých pH byly připraveny smícháním těchto složek.

Aktivační roztok chloridu draselného o koncentraci $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ (Lach-Ner, p. a) byl připraven rozpuštěním 3,728 g v 250 mL deionizované vody.

Spektrometrická měření byla prováděna proti deionizované vodě jako slepému pokusu.

2.2. Aparatura

Voltametrická stanovení se prováděla na sestavě Eco-Tribo polarograf se softwarem PolarPro 5.1 (Polaro-Sensors) v tříelektrodovém zapojení. Jako pracovní elektroda byla použita rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda (m-AgSAE). Nasycená argentchloridová elektroda ($3 \text{ mol.L}^{-1} \text{ KCl}$, typ RAE 113, Monokrystaly) byla použita jako referentní a platinová elektroda jako pomocná. Rychlost nárůstu byla zvolena jako 20 mVs^{-1} , při měření technikou DPV byla výška pulzu -50 mV a šířka pulzu 100 ms.

Přesná hodnota pH byla naměřena na digitálním laboratorním pH metru Jenway 3510s kombinovanou skleněnou elektrodou (Jenway). Přístroj byl minimálně jednou

týdně kalibrován standardními kalibračními pufrů o pH 4,00, 7,00 a 10,00 (Sigma-Aldrich).

Spektrofotometrická měření byla prováděna na přístroji Agilent 8453 v programu UV-Visible ChemStation 9.01 v křemenné kyvetě o délce 1,0 cm.

2.3. Pracovní postupy

Měření pH závislosti, závislosti odezvy na rychlosti nárůstu potenciálu a opakovatelnosti byla prováděna pipetováním 9 mL příslušného BR-pufu a 1 mL zásobního roztoku chinoxalinu ($c = 1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) do měřicí nádoby.

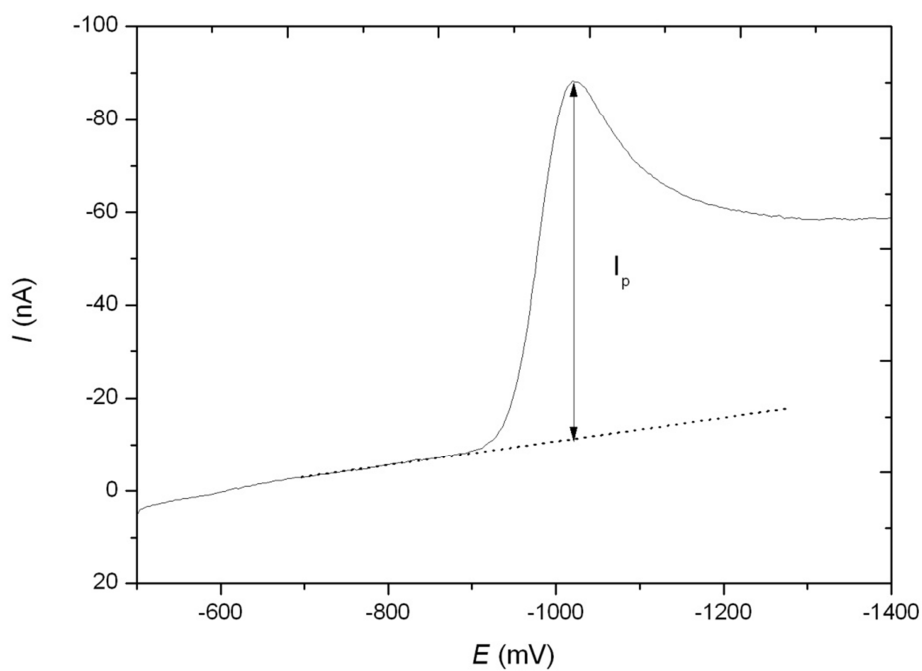
Opakovatelnost byla měřena dvaceti po sobě jdoucími skeny v BR-pufu o optimální hodnotě pH bez vložených regeneračních potenciálů a s vloženými regeneračními potenciály.

Koncentrační závislosti byly proměřeny v rozmezí od $1.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ do $1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Nejnižší koncentrační řád byl změřen postupným přidáváním dvakrát 10 μL a čtyřikrát 20 μL analytu o koncentraci $1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Řád $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ byl proměřen stejným způsobem přidáváním roztoku o koncentraci $1.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Nejvyšší řád byl změřen pomocí 10,0 mL odměrných baněk, příslušný pipetovaný objem analytu byl doplněn BR-pufem o optimální hodnotě pH. Následně se měřený roztok probublával dusíkem (čistota 4.0, Linde) po dobu 5 minut pro odstranění rozpuštěného kyslíku. Následně se naměřil voltamogram.

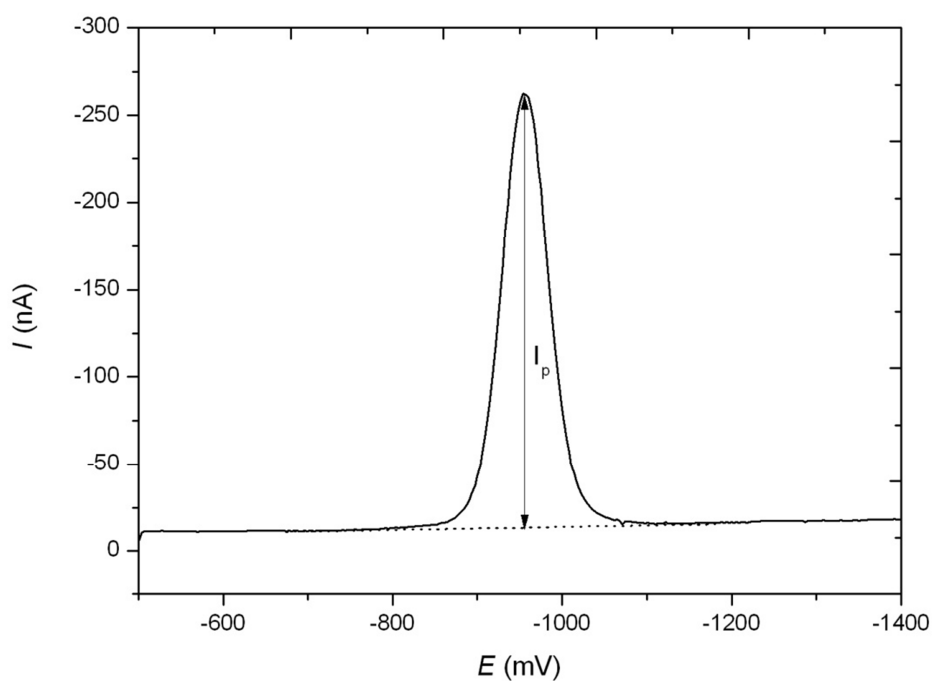
Měření pro pH závislost bylo opakováno pětkrát, závislost odezvy na rychlosti nárůstu potenciálu třikrát a opakovatelnost dvacetkrát. Koncentrační závislost byla měřena pětkrát, přičemž nejnižší koncentrace u nejnižšího koncentračního řádu byla naměřena desetkrát.

Výška píku u techniky DCV byla vyhodnocena prodloužením křivky linie před růstem píku (obrázek 5) a u techniky DPV spojením minim na stranách píku (obrázek 6). Plocha píku se vyhodnotila pomocí integrační funkce v nástroji „Spektroskopická analýza“ v programu OriginPro 8. Pro vytvoření grafů, výpočty a statistiku byly použity programy OriginPro 8 (OriginLab Corporation) a Microsoft Excel 2007 (Microsoft Corporation). Pomocí programu OriginPro 8 byly kalibrační přímky vyhodnoceny a pro ně sestaveny konfidenční pásy ($\alpha = 0,05$). Mez stanovitelnosti (L_Q) byla vypočtena jako

koncentrace odpovídající desetinásobku směrodatné odchylky deseti po sobě jdoucích měření (vyhodnocená výška píku či plocha píku) nejnižší koncentrace příslušné kalibrační křivky [28].



Obr. 5: Grafické znázornění způsobu odečtu výšky píku (I_p), technikou DCV.



Obr. 6: Grafické znázornění způsobu odečtu výšky píku (I_p), technika DPV.

3. Voltametrické stanovení chinoxalinu na m-AgSAE

3.1. DC voltametrie

3.1.1. Vliv pH

Závislost elektrochemického chování chinoxalinu při proměnném pH byla zjišťována v BR-pufu v rozmezí od pH 2,0 do pH 13,0. Koncentrace chinoxalinu byla $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

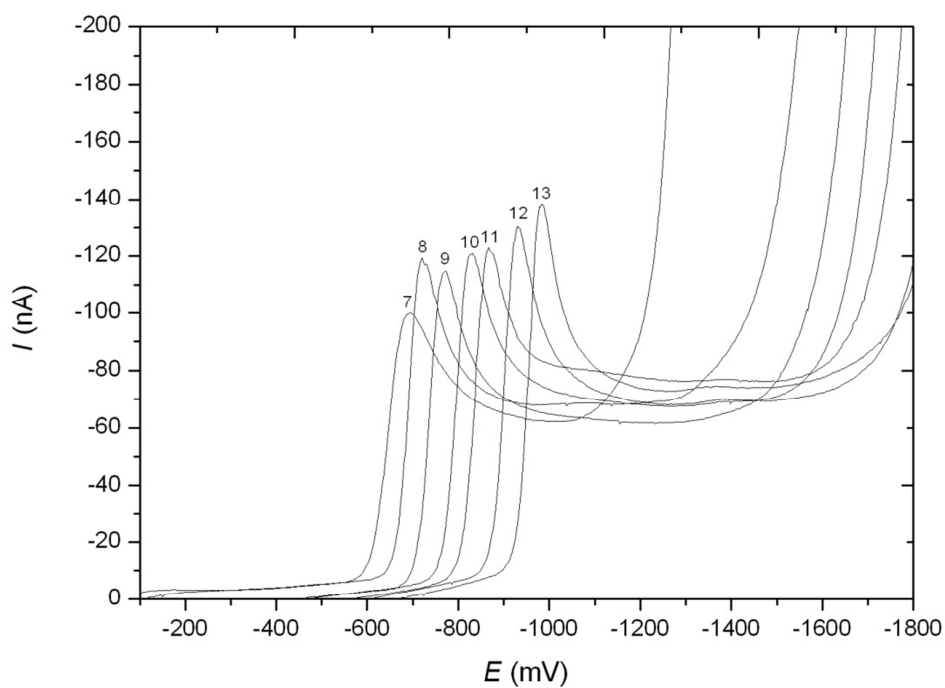
Při pH 2,0 poskytovala látka jeden dobře vyvinutý pík, potenciál píku se pohyboval v rozmezí od 398-405 mV. U pH 3,0-6,0 se rozdíl potenciálů mezi jednotlivými píky příslušného pH pohybovaly kolem 25 mV a výška píku se snižovala o 11 % až 33 %. Od pH 7,0 se signál ustálil na jednom reprodukovatelném voltametrickém píku, potenciály jednotlivých píků u příslušných pH zůstaly stejné a výška píků se nesnižovala.

Na obrázku 7 jsou znázorněny vybrané křivky v rozmezí pH 7,0 až pH 13,0, na kterých lze pozorovat posun píků k zápornějším potenciálům. Důvodem posunu píků je obtížnější redukce látky v závislosti na nižší koncentraci vodíkových iontů v měřeném prostředí.

Změny I_p a posun E_p v závislosti na pH jsou uvedeny v tabulce 1 a na obrázcích 8 a 9. Závislost E_p na pH v úseku pH 7,00 až pH 13,00 lze vyjádřit rovnicí (1):

$$E_p (\text{mV}) = - 338,1 \cdot \text{pH} - 49,0 \quad (R = 0,990) \quad (1)$$

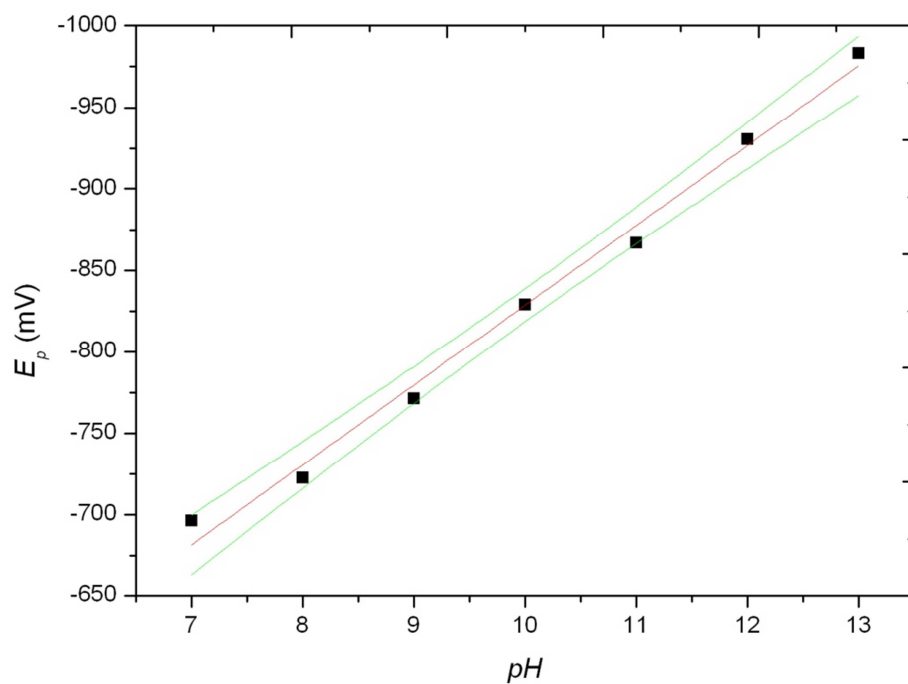
Maximální odezva byla naměřena u pH 13,00, které bylo zvoleno jako optimální prostředí.



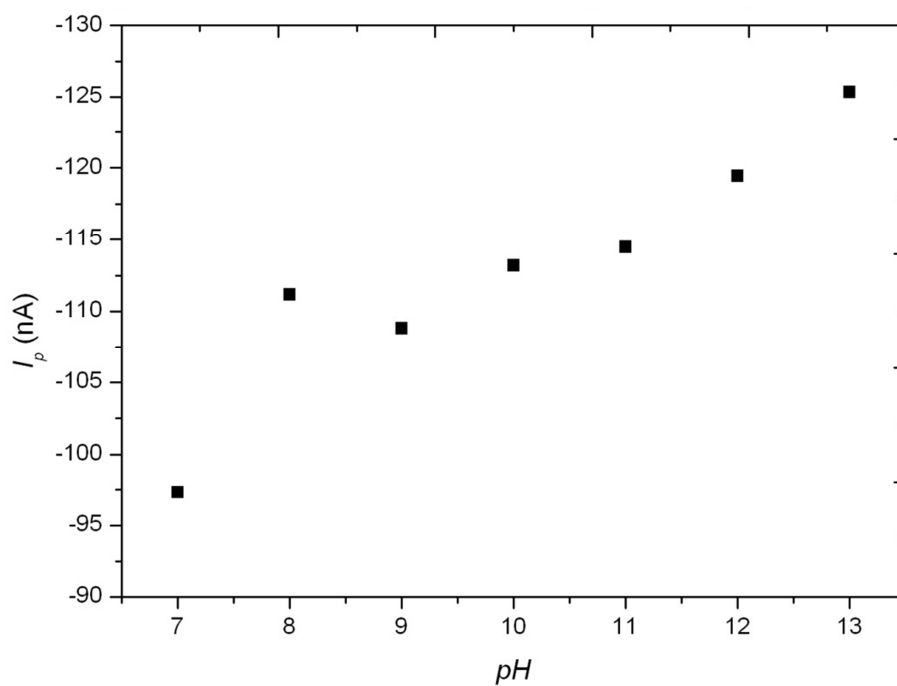
Obr. 7: DC voltamogramy chinoxalinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 7,0 (7) 8,0 (8), 9,0 (9), 10,0 (10), 11,0 (11), 12,0 (12), 13,0 (13).

Tabulka 1: Závislost hodnot I_p a E_p na pH měřené technikou DCV na $m\text{-AgSAE}$ v roztoku chinoxalinu ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufu o různém pH.

pH	E_p (mV)	I_p (nA)
7,0	-696	-97,3
8,0	-722	-111,2
9,0	-771	-108,8
10,0	-829	-113,2
11,0	-867	-114,5
12,0	-931	-119,4
13,0	-983	-125,3



Obr. 8: Závislost E_p na pH měřená technikou DCV na m -AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufry o pH 7,0 až pH 13,0. Konfidenční pásy jsou sestrojeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. ($n=5$)



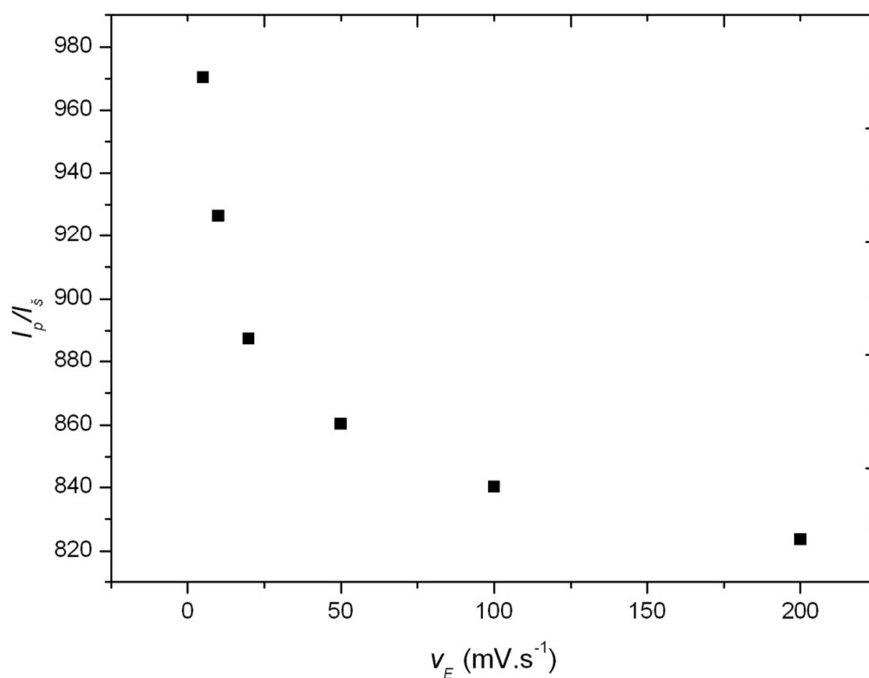
Obr. 9: Závislost I_p na pH měřená technikou DCV na m -AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufry o pH 7,0 až pH 13,0.

3.1.2. Vliv rychlosti nárůstu potenciálu

Vliv rychlosti nárůstu potenciálu byl studován v prostředí BR-pufu o pH 13,0. Byly proměřeny rychlosti 5 mV.s⁻¹, 10 mV.s⁻¹, 20 mV.s⁻¹, 50 mV.s⁻¹, 100 mV.s⁻¹ a 200 mV.s⁻¹. Nejvhodnější rychlost má největší poměr výšky píku k velikosti šumu. Poměry I_p/I_s jsou uvedeny v tabulce 2. Na obrázku 10 je znázorněna závislost poměru I_p/I_s na rychlosti nárůstu potenciálu. Nejvhodnější by byla rychlost 5 mV.s⁻¹, vzhledem k uvážení délky analýzy byla vybrána rychlost 20 mV.s⁻¹ (stejná byla použita i u techniky DPV).

Tabulka 2: Hodnoty poměru I_p/I_s při různých rychlostech nárůstu potenciálu měřené technikou DCV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol. L⁻¹) v prostředí BR-pufu o pH 13,0.

v_E (mV.s ⁻¹)	I_p/I_s
5	970
10	927
20	888
50	860
100	840
200	824

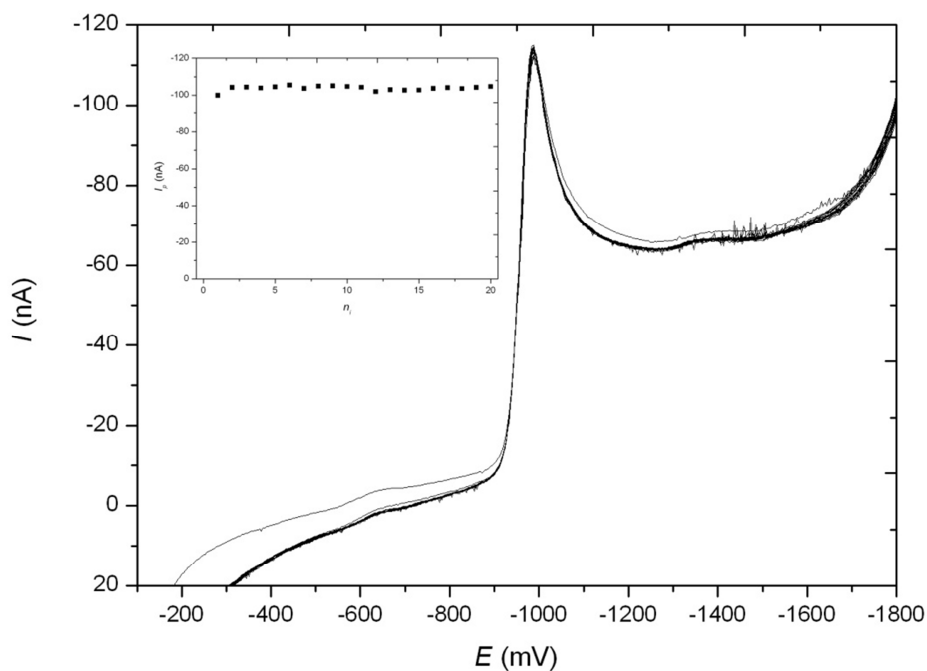


Obr. 10: Graf závislosti poměru I_p/I_s při různých rychlostech růstu potenciálu měřené technikou DCV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufry o pH 13,0.

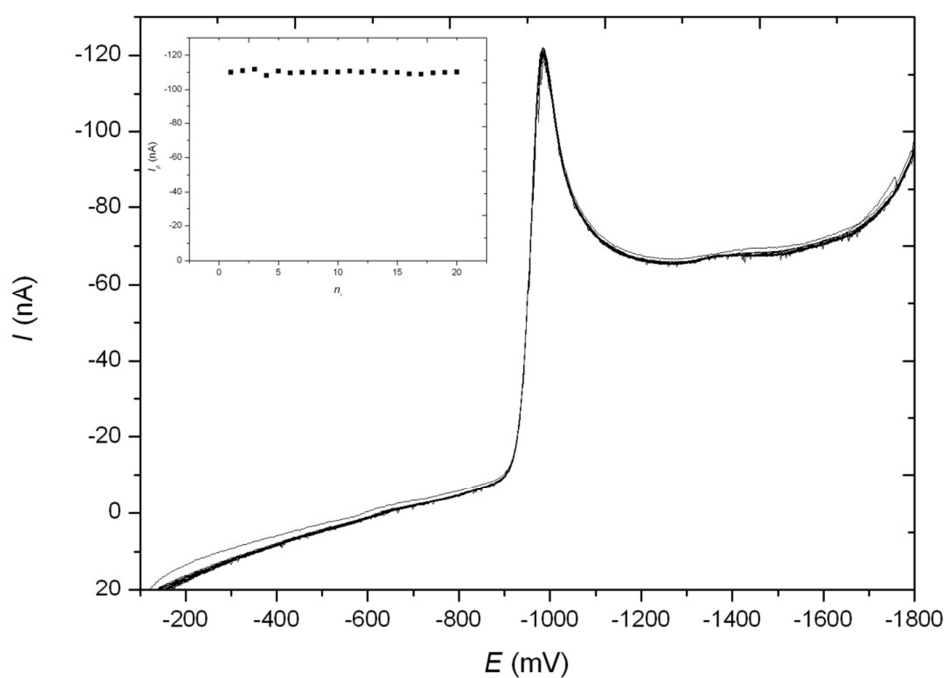
3.1.3. Opakovatelnost

Opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích DCV stanovení chinoxalinu byla měřena při jeho koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ v prostředí BR-pufry o pH 13,0. Nejprve byla měřena bez vložených regeneračních potenciálů (obrázek 11) a pak s vloženými regeneračními potenciály ($E_{in} = -100 \text{ mV}$, $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$, obrázek 12).

Byla vypočtena relativní směrodatná odchylka (s_r) z obou souborů dat jako míra opakovatelnosti. Opakovatelnost měření s regenerací byla lepší ($s_r = 0,70 \%$) oproti měření bez regenerace ($s_r = 1,21 \%$), a proto koncentrační závislost byla měřena s regeneračními potenciály $E_{in} = -100 \text{ mV}$, $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$.



Obr. 11: Voltamogramy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) měřené technikou DCV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 bez vložené regenerace. Odpovídající závislost I_p na pořadí měření ($n=20$) je zobrazena ve vloženém grafu.

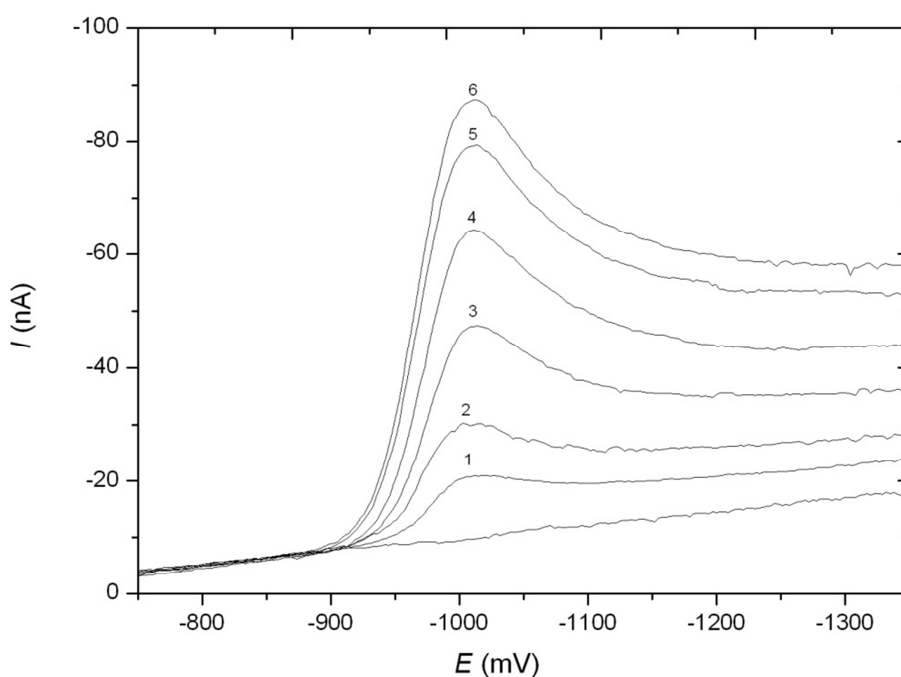


Obr. 12: Voltamogramy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) měřené technikou DCV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Odpovídající závislost I_p na pořadí měření ($n=20$) je zobrazena ve vloženém grafu.

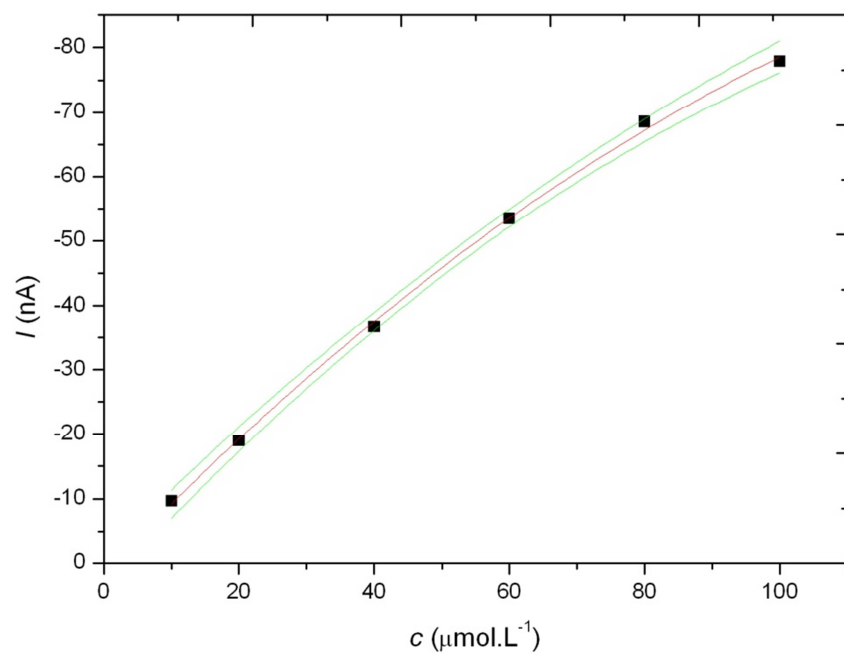
3.1.4. Koncentrační závislost

Byla proměřena kalibrační závislost výšky píku (I_p) na koncentraci chinoxalinu technikou DCV pomocí m-AgSAE, na kterou byly vkládány regenerační potenciály $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV, v prostředí BR-pufro o pH 13,0.

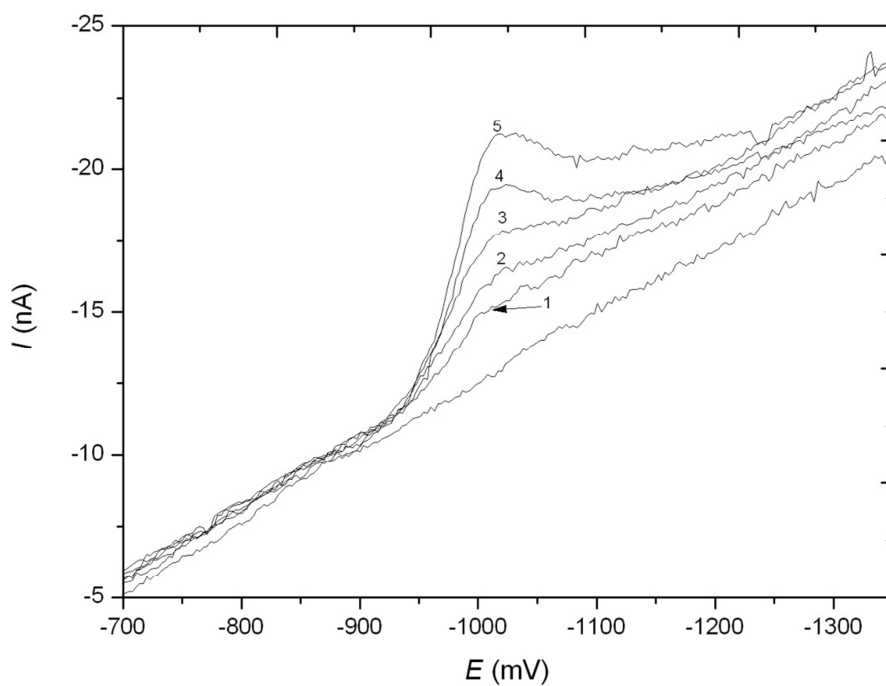
Následující grafy zobrazují záznam voltamogramů a kalibrační křivky řádů 10^{-5} mol.L $^{-1}$ (obrázek 13 a 14), 10^{-6} mol.L $^{-1}$ (obrázek 15 a 16) a 10^{-7} mol.L $^{-1}$ (obrázek 18 a 19). Všechny koncentrační závislosti lze vyjádřit pomocí polynomu druhého řádu. Jedině řád 10^{-6} mol.L $^{-1}$ vykazoval lineární závislosti (obrázek 17). Parametry kalibračních křivek jsou shrnuty v tabulce 3.



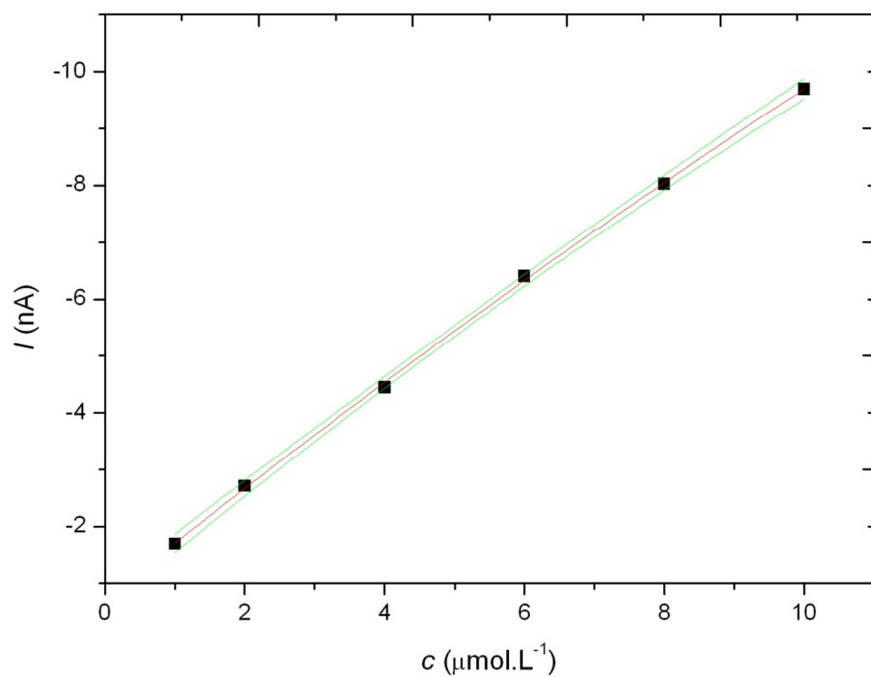
Obr. 13: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DCV na m-AgSAE v prostředí BR-pufro o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufro: $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$ (1), $2 \cdot 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ mol.L $^{-1}$ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L $^{-1}$ (6).



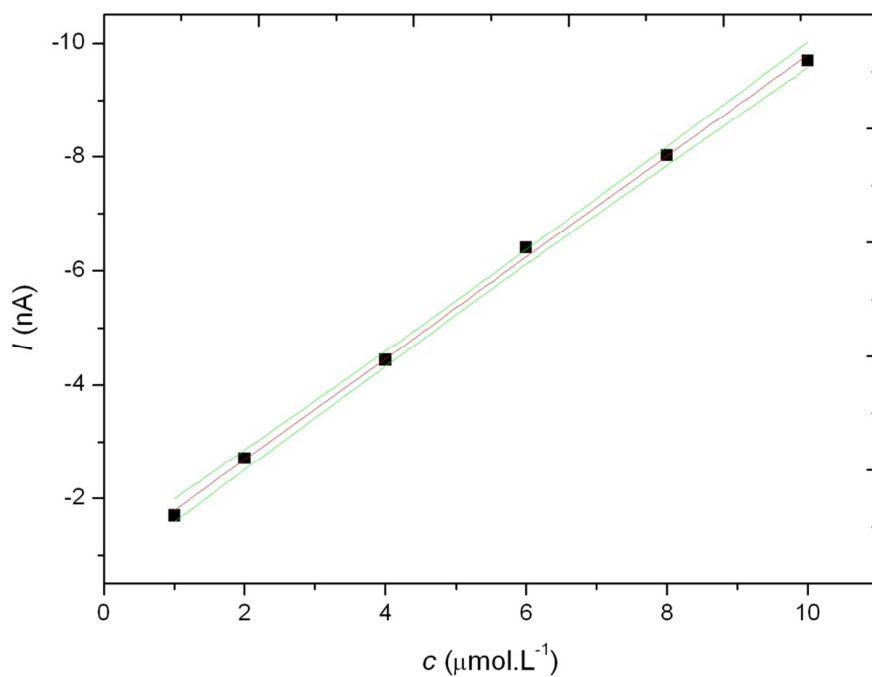
Obr. 14: Kalibrační křivka chinoxalinu pro řád $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ měřená technikou DCV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



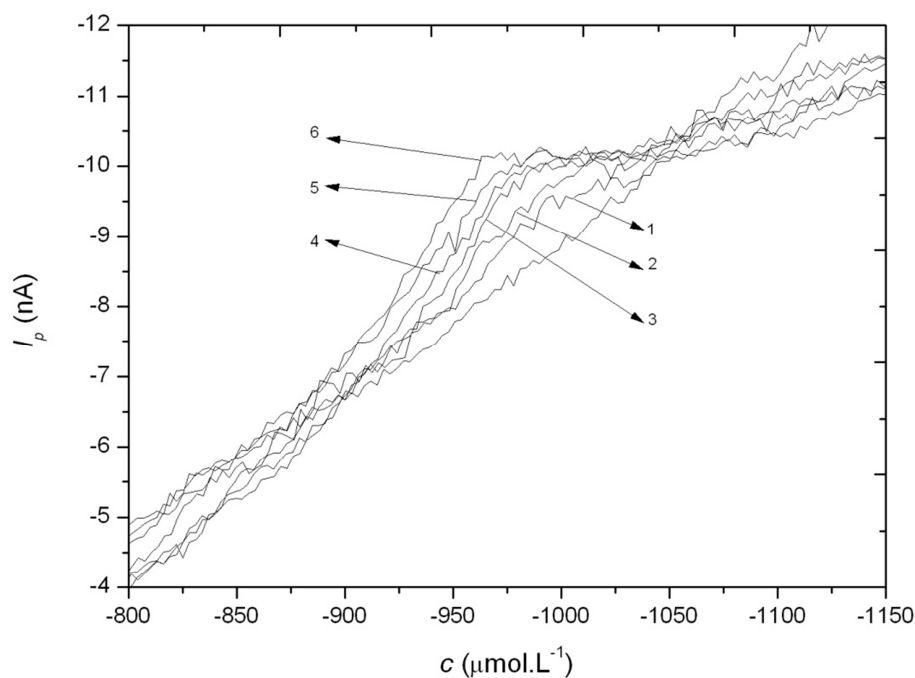
Obr. 15: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DCV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufu: $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (1), $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (2), $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (3), $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (4), $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (6).



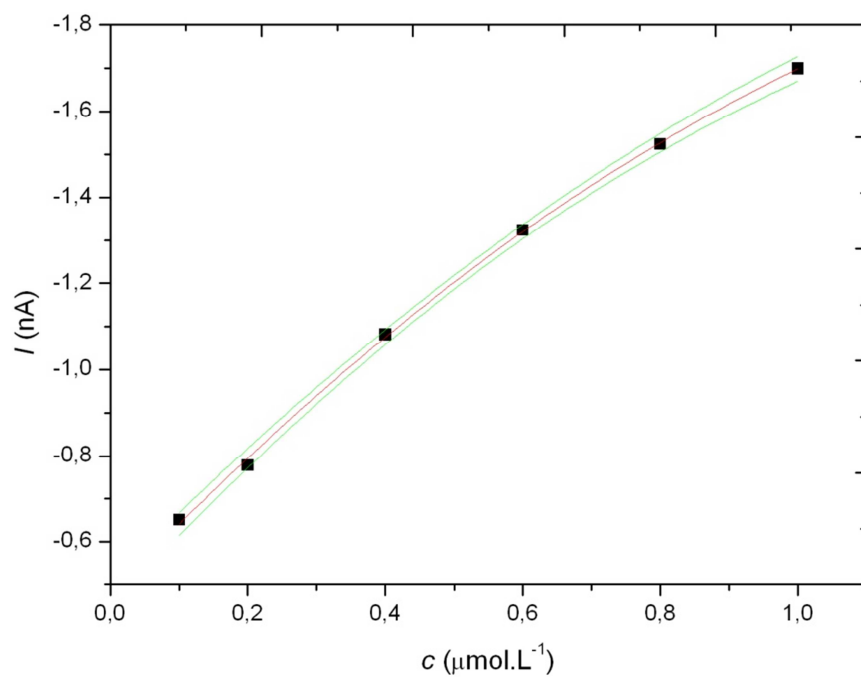
Obr. 16: Kalibrační křivka chinoxalinu pro řád $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ měřená technikou DCV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



Obr. 17: Kalibrační přímka chinoxalinu pro řád $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ měřená technikou DCV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



Obr. 18: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DCV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufu: $1 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹(1), $2 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹(2), $4 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹(3), $6 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹(4), $8 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹(5) a $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹(6).



Obr. 19: Kalibrační křivka chinoxalinu pro řád 10^{-7} mol.L⁻¹ měřená technikou DCV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).

Tabulka 3: Parametry kalibračních křivek a přímky pro stanovení chinoxalinu měřené technikou DCV na m-AgSAE v prostředí BR-pufry o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Rovnice pro polynom druhého řádu: $y = ax^2 + bx + \text{úsek}$, rovnice pro lineární závislost řádu $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$: $y = bx + \text{úsek}$.

c (mol.L ⁻¹)	a (nA ² .L ² .μmol ⁻²)	b (nA.L.μmol ⁻¹)	úsek (nA)	R ²	L _Q (μmol.L ⁻¹)
(1-10).10 ⁻⁵	(2,91±0,52).10 ⁻³	-1,091±0,058	1,4±1,3	0,999	-
(1-10).10 ⁻⁶	(9,0±3,8).10 ⁻³	-0,987±0,043	-0,730±0,094	1,000	-
		-0,890±0,014	-0,903±0,085	0,999	-
(1-10).10 ⁻⁷	0,435±0,063	-1,675±0,070	-0,478±0,015	1,000	0,82

3.2. DP voltametrie

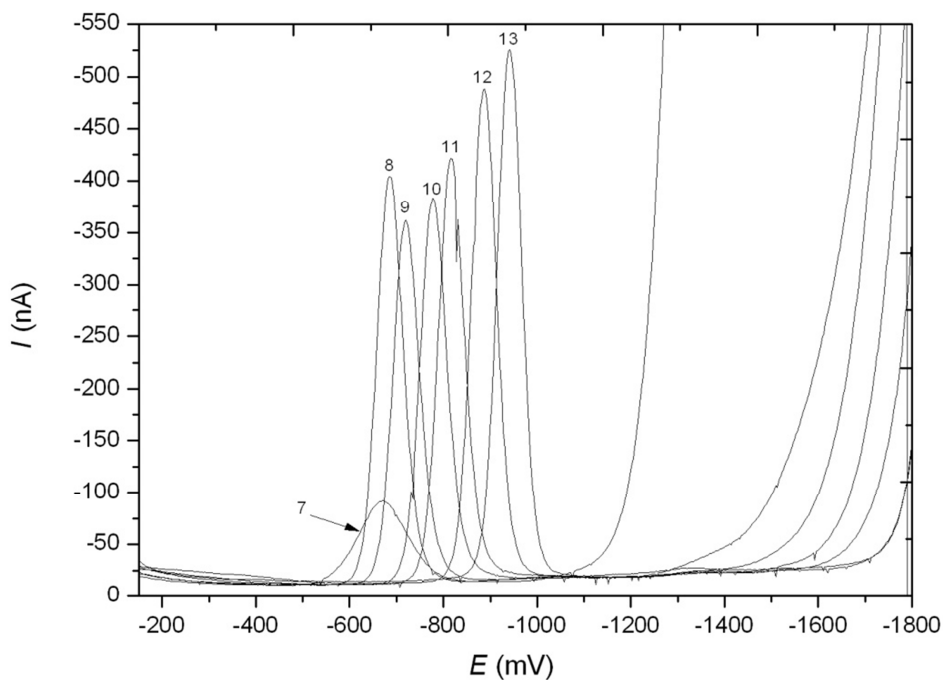
3.2.1. Vliv pH

Sledování vlivu pH na elektrochemického chování chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) bylo sledováno v prostředí BR-pufu v rozmezí pH 2,0-13,0. Při pH 2,0 byly zaznamenány dva píky. První postupně vymizel a výška druhého se snížila o 17 %. U pH 3 vznikl jeden pík, který klesl o 30 %. Dva píky mělo pH 4,0, přičemž druhý postupně vymizel a signál klesl o 56 %. U pH 5,0 a 6,0 zůstaly dva píky a jejich pokles byl v rozmezí 15 % až 39 %. Od pH 7,00 se signál ustálil na jednom reprodukovatelném voltametrickém píku.

Vybrané křivky pH 7,0-13,0 jsou zobrazeny na obrázku 20, na kterém lze sledovat posun vrcholu píku k zápornějším hodnotám potenciálu. Závislost změny I_p a posun E_p na pH jsou uvedeny v tabulce 4 a na obrázcích 21 a 22. Závislost E_p na pH v úseku pH 7,0 až pH 13,0 lze vyjádřit rovnicí (2):

$$E_p (\text{mV}) = -338,1 \cdot \text{pH} - 49,0 \quad (R = 0,990) \quad (2)$$

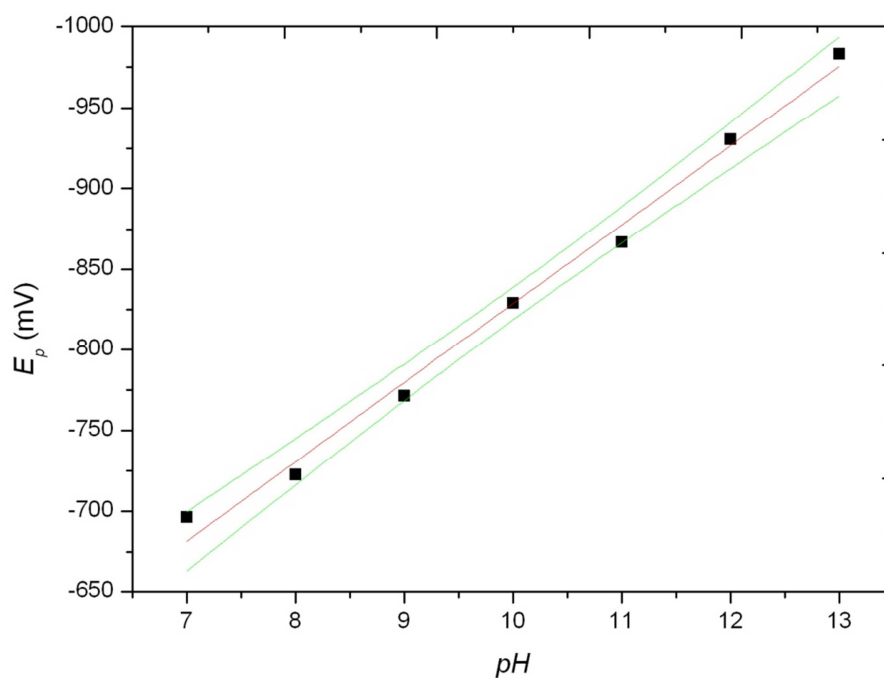
Nejvyšší odezva byla u pH 13,00, které bylo zvoleno jako optimální prostředí.



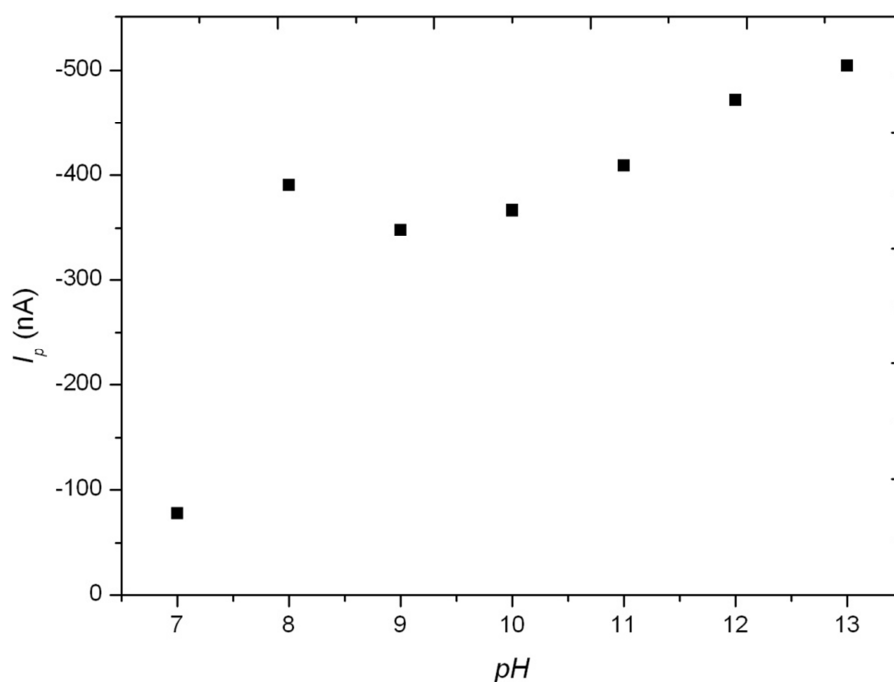
Obr. 20: DP voltamogramy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) na m-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 7,0 (7) 8,0 (8), 9,0 (9), 10,0 (10), 11,0 (11), 12 (12,0), 13,0 (13).

Tabulka 4: Závislost hodnot I_p a E_p na pH měřené technikou DPV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufry o různém pH.

pH	E_p (mV)	I_p (nA)
7,0	-675	-78,0
8,0	-685	-390,8
9,0	-719	-348,1
10,0	-776	-366,9
11,0	-817	-409,0
12,0	-888	-471,7
13,0	-941	-504,2



Obr. 21: Závislost E_p na pH měřené technikou DPV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufry o pH 7 až pH 13. Konfidenční pásy byly sestaveny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. ($n = 5$)



Obr. 22: Závislost I_p na pH měřené technikou DPV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufu o pH 7,0 až pH 13,0.

3.2.2. Vliv rychlosti nárůstu potenciálu

Vliv rychlosti nárůstu potenciálu na odezvu chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) byl studován v prostředí BR-pufu o pH 13,0. Byly proměřeny v_E 5 mV.s^{-1} , 10 mV.s^{-1} , 20 mV.s^{-1} , 50 mV.s^{-1} , 100 mV.s^{-1} a 200 mV.s^{-1} . Při rychlostech nad 50 mV.s^{-1} se pík začal deformovat. Rychlost 20 mV.s^{-1} měla největší poměr výšky píku k velikosti šumu a proto byla zvolena pro další měření. Poměry I_p/I_s jsou uvedeny v tabulce 5.

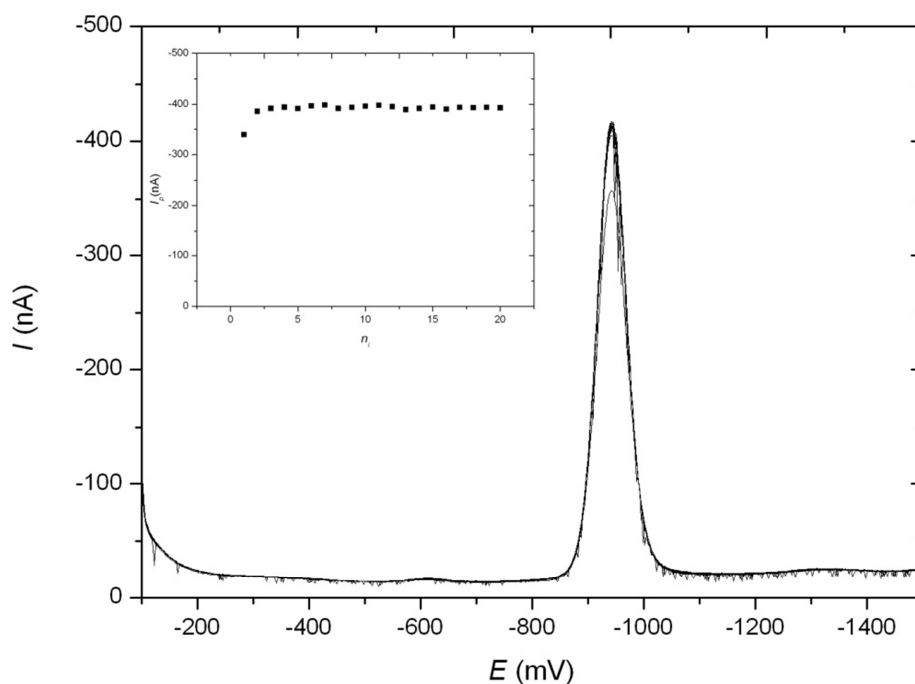
Tabulka 5: Hodnoty poměru I_p/I_s při různých rychlostech nárůstu potenciálu měřené technikou DPV na m-AgSAE v roztoku chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí BR-pufu o pH 13,0

v_E (mV.s^{-1})	I_p/I_s
5	1609
10	1834
20	2425
50	1413

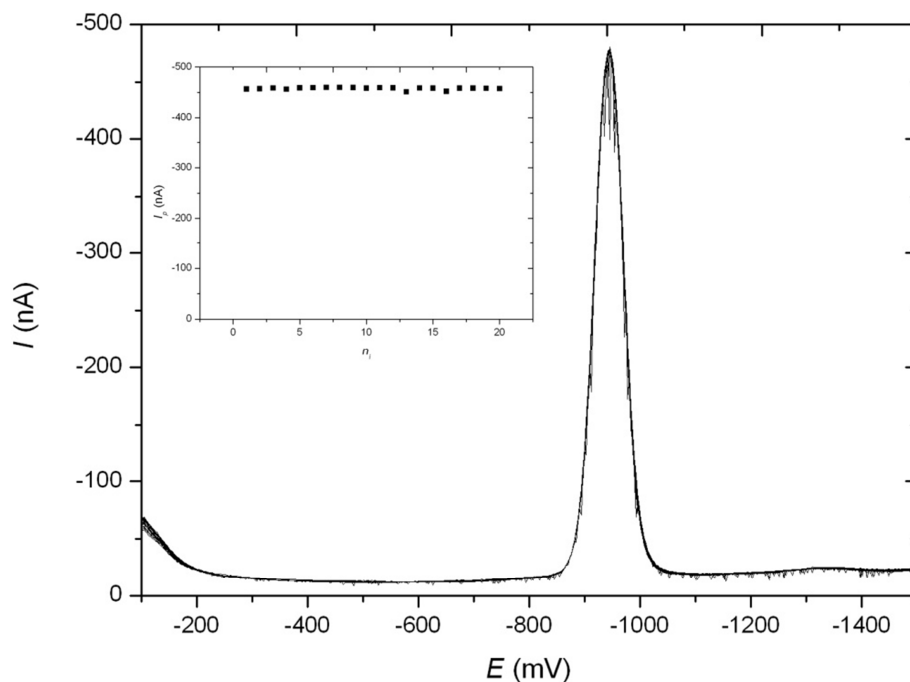
3.2.3. Opakovatelnost

Opakovatelnost odezvy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) byla naměřena technikou DPV v prostředí BR-pufro o pH 13,0 na m-AgSAE. Dvacet po sobě jdoucích skenů bylo nejprve naměřeno bez vložených regeneračních potenciálu a pak s vloženými regeneračními potenciály ($E_{\text{in}} = -100 \text{ mV}$, $E_{\text{fin}} = -1800 \text{ mV}$).

Mírou opakovatelnosti byla relativní směrodatná odchylka. Opět bylo použito měření s regenerací ($s_r = 0,51 \%$) na místo měření bez regeneračních potenciálů ($s_r = 0,76 \%$) pro stanovení kalibrační závislosti. Záznamy voltamogramů jsou na obrázcích 23 a 24. Příslušné grafy s hodnotami I_p jsou uvedeny v příslušném vloženém obrázku.



Obr. 23: Voltamogramy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR-pufro o pH 13,0 bez vložené regenerace. Odpovídající závislost I_p na pořadí měření ($n=20$) je zobrazena ve vloženém grafu.

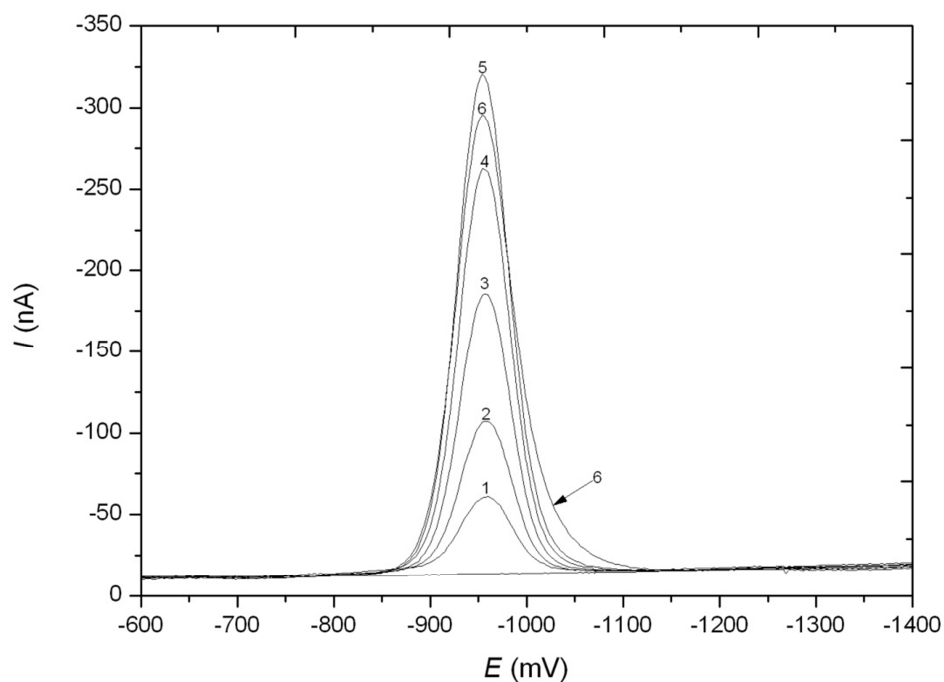


Obr. 24: Voltamogramy chinoxalinu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR-pufro o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$. Odpovídající závislost I_p na pořadí měření ($n=20$) je zobrazena ve vloženém grafu.

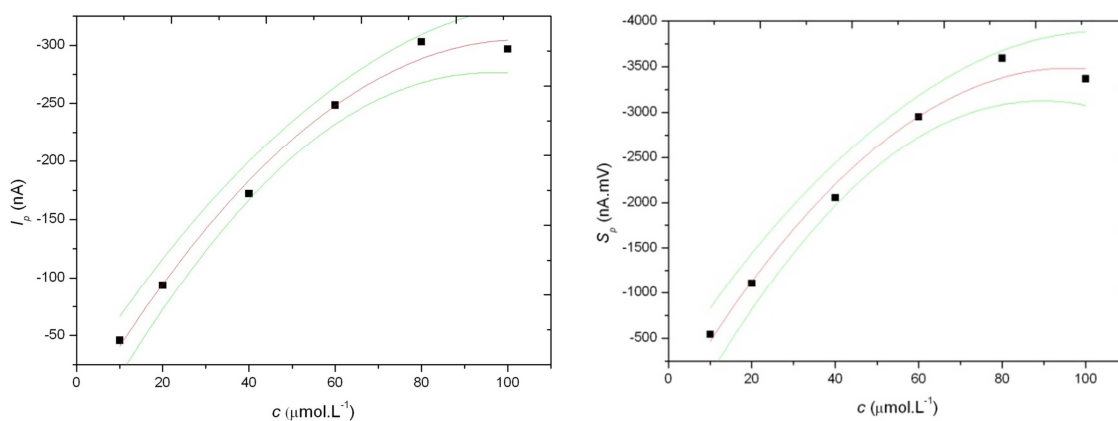
3.2.4. Koncentrační závislost

Byla proměřena kalibrační závislost výšky píku (I_p) a plochy píku (S_p) na koncentraci chinoxalinu technikou DPV pomocí m-AgSAE, na kterou byly vkládány regenerační potenciály $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fin} = -1800 \text{ mV}$, v prostředí BR-pufro o pH 13,0.

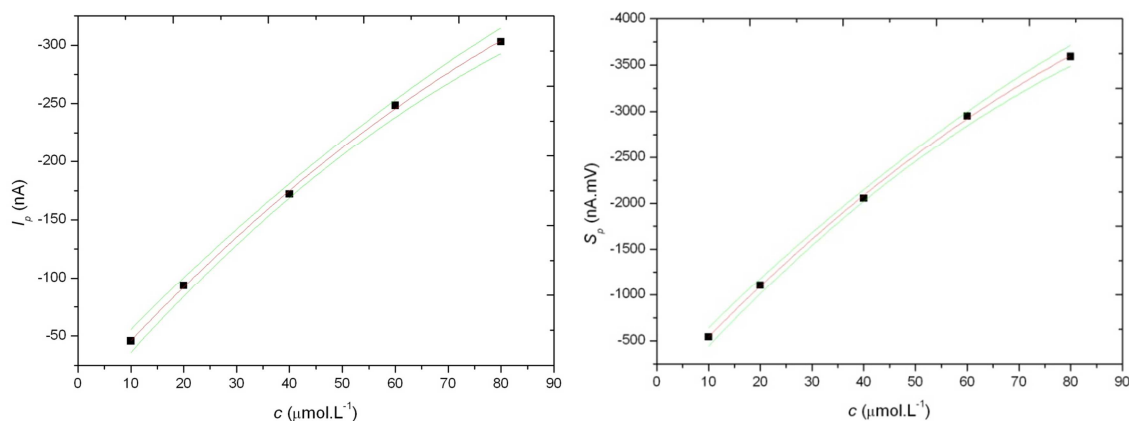
Záznamy voltamogramů a kalibrační křivky pro I_p a S_p jsou uvedeny na obrázcích 25, 26 a 27 pro řád $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, 28 a 29 pro $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ a 31 a 32 pro řád $10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$. Jak je vidět z kalibračních křivek pro nejvyšší řád na obrázku 26, je výška i plocha píku při koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ menší než hodnoty I_p a S_p při koncentraci $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Proto byla z kalibračních křivek vyřazena (obrázek 27). Důvodem byla pravděpodobně pasivace elektrody během měření nejvyššího koncentračního řádu. Všechny koncentrační závislosti lze opět vyjádřit pomocí polynomu druhého řádu. Jedině řád $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ vykazoval lineární závislostí (obrázek 30). Parametry všech přímek jsou shrnuty v tabulce 6.



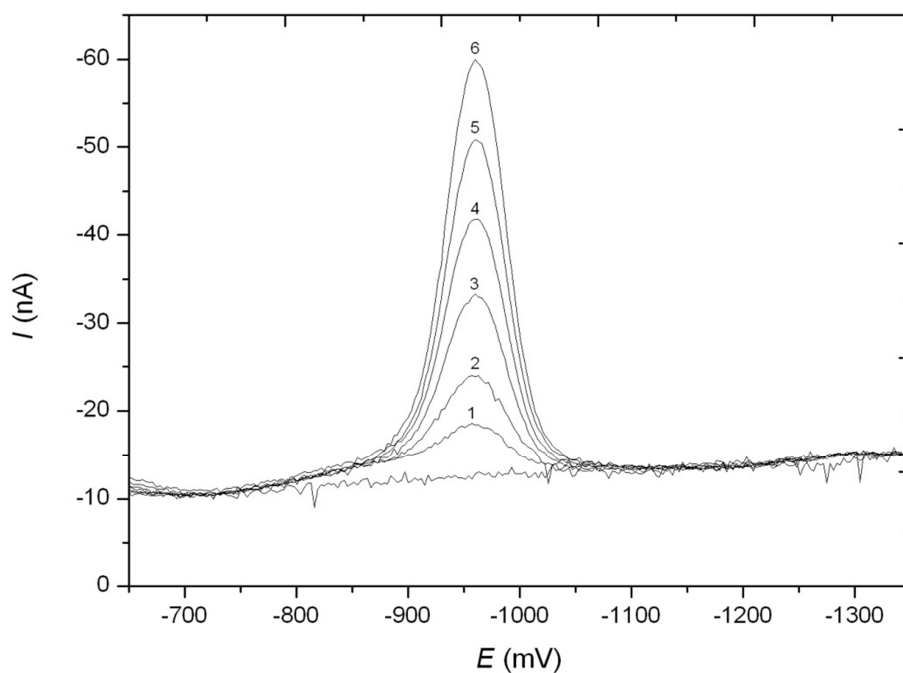
Obr. 25: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DPV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufu: $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (1), $2 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ (6).



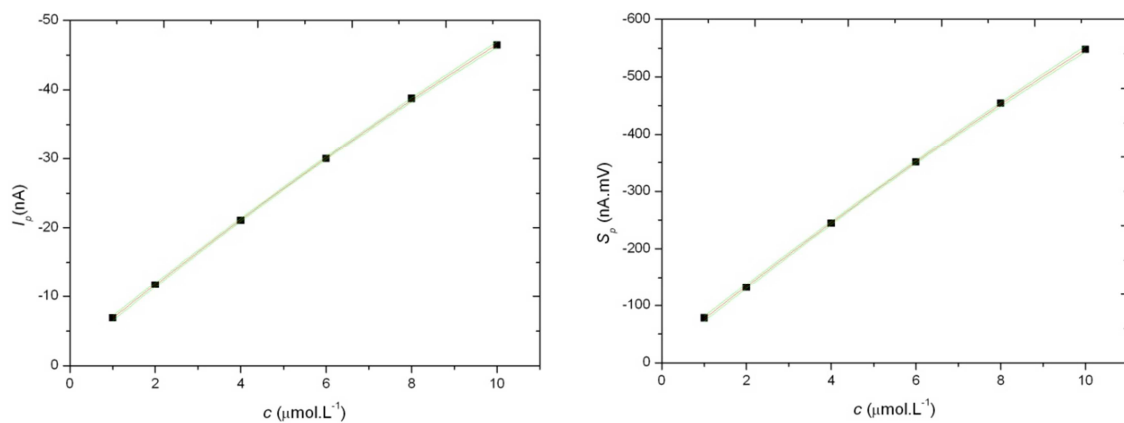
Obr. 26: Kalibrační křivky vyhodnocené podle I_p a S_p pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ až $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ měřené technikou DPV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = 1800$ mV. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



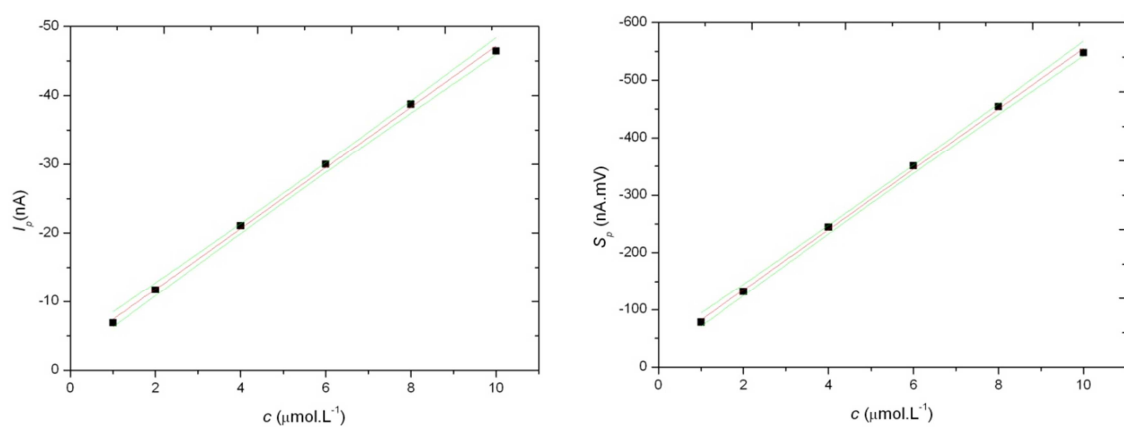
Obr. 27: Kalibrační křivky vyhodnocené podle I_p a S_p pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ až $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ měřené technikou DPV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_m = -100 \text{ mV}$ a $E_{fm} = -1800 \text{ mV}$. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



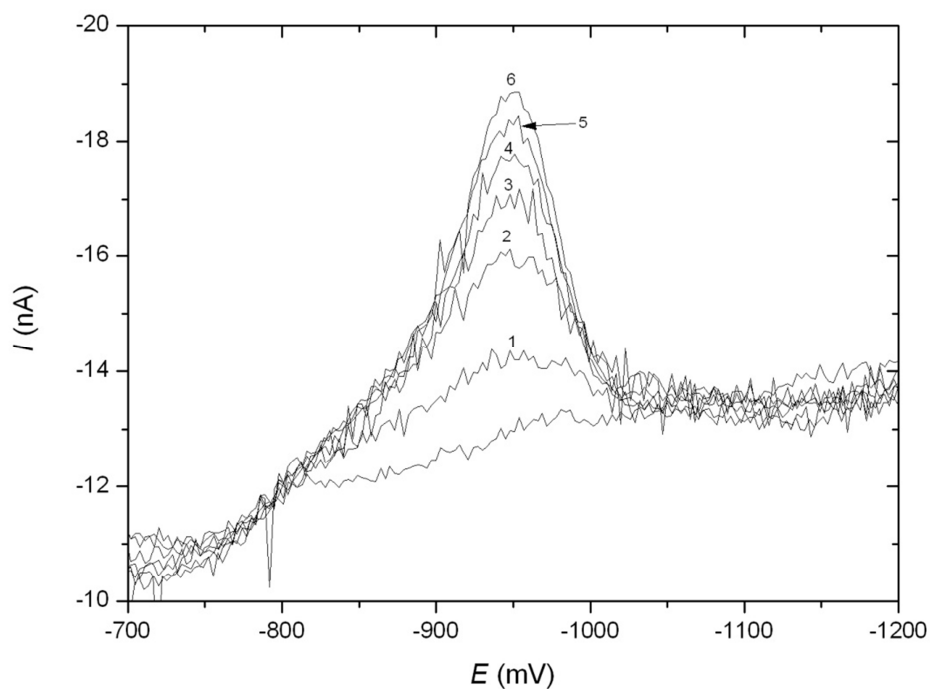
Obr. 28: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DPV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_m = -100 \text{ mV}$ a $E_{fm} = -1800 \text{ mV}$. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufu: $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (1), $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (2), $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (3), $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (4), $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (6).



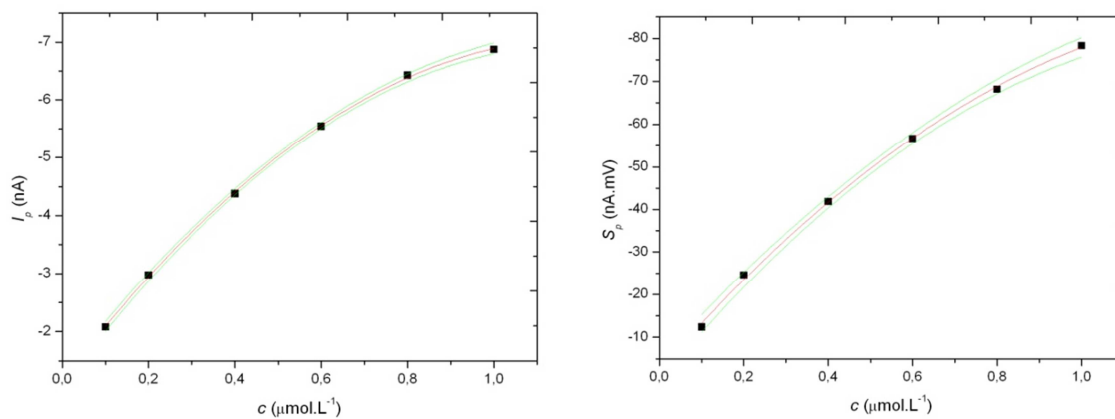
Obr. 29: : Kalibrační křivky vyhodnocené podle I_p a S_p pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ měřené technikou DPV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fm} = -1800 \text{ mV}$. Kalibrační závislosti proloženy polynomem druhého řádu. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



Obr. 30: Kalibrační přímky chinoxalinu vyhodnocené podle I_p a S_p pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ až $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ měřené technikou DPV na $m\text{-AgSAE}$ v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100 \text{ mV}$ a $E_{fm} = -1800 \text{ mV}$. Kalibrační závislosti proloženy přímkou. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



Obr. 31: Kalibrační voltamogramy chinoxalinu měřené technikou DPV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fm} = -1800$ mV. Koncentrace chinoxalinu v BR-pufu: $1 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (1), $2 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (2), $4 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (3), $6 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (4), $8 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ (5) a $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹ (6).



Obr. 32: Kalibrační křivky pro vyhodnocení podle I_p a S_p pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹ měřené měřenou technikou DPV na *m*-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fm} = -1800$ mV. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).

Tabulka 6: Parametry kalibračních křivek a přímek pro stanovení chinoxalinu měřené technikou DPV na m-AgSAE v prostředí BR-pufu o pH 13,0 s vloženou regenerací $E_{in} = -100$ mV a $E_{fin} = -1800$ mV. Rovnice pro polynom druhého řádu: $y = ax^2 + bx + \text{úsek}$, rovnice pro lineární závislost řádu 10^{-6} mol.L⁻¹: $y = bx + \text{úsek}$.

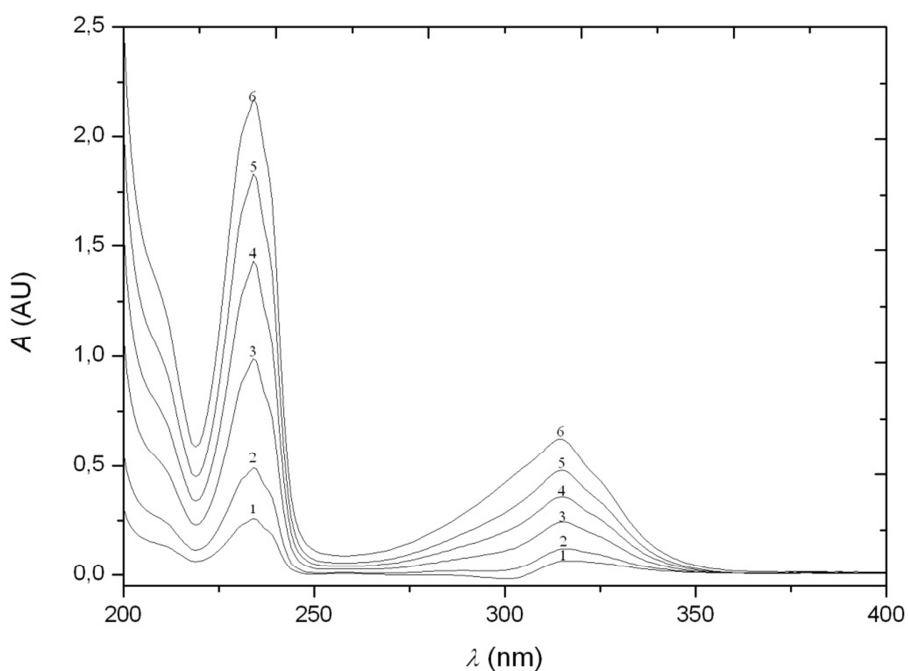
I_p					
c (mol.L ⁻¹)	a (nA ² .L ² .μmol ⁻²)	b (nA.L.μmol ⁻¹)	úsek (nA)	R ²	L _Q (μmol.L ⁻¹)
(1-10)10 ⁻⁵	0,0155 ± 0,0029	-5,08 ± 0,26	3,2 ± 4,7	0,999	-
(1-10)10 ⁻⁶	0,0591 ± 0,0081	-5,062 ± 0,090	-1,84 ± 0,20	1,000	-
		-4,422 ± 0,076	-2,97 ± 0,46	0,998	-
(1-10)10 ⁻⁷	3,99 ± 0,20	-9,73 ± 0,22	-1,158 ± 0,049	1,000	0,39

S_p					
c (mol.L ⁻¹)	a (nA ² .mV ² .L ² .μmol ⁻²)	b (nA.mV.L.μmol ⁻¹)	úsek (nA.mV)	R ²	L _Q (μmol.L ⁻¹)
(1-10)10 ⁻⁵	0,192 ± 0,029	-61 ± 2,7	48 ± 48	0,999	-
(1-10)10 ⁻⁶	0,61 ± 0,11	-59,2 ± 1,2	-18,2 ± 2,6	1,000	-
		-52,55 ± 0,80	-29,9 ± 4,8	0,998	-
(1-10)10 ⁻⁷	38,0 ± 4,9	-113,6 ± 5,4	-2,3 ± 1,2	0,998	0,28

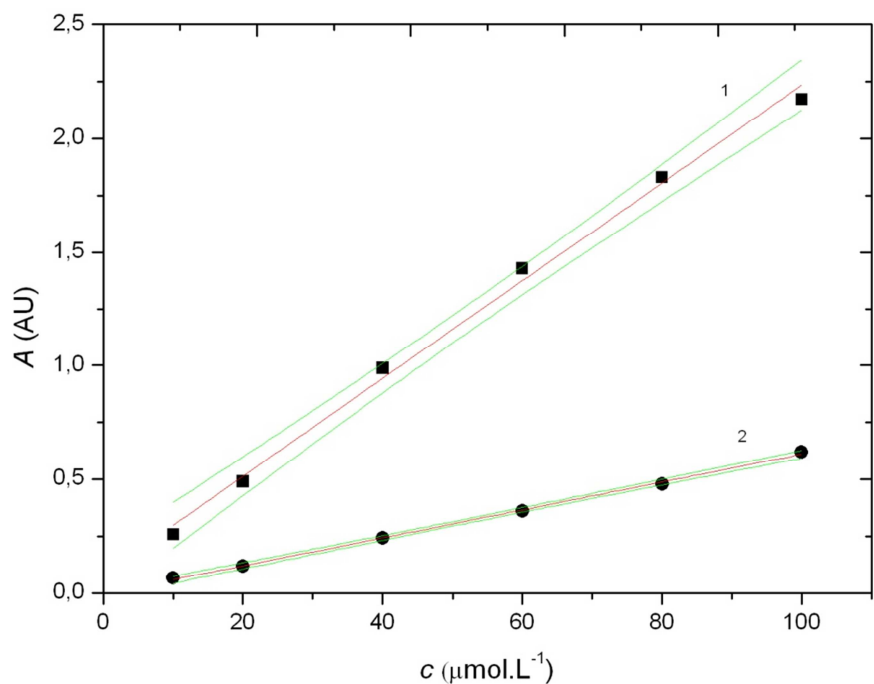
4. Spektrofotometrické stanovení chinoxalinu

Kalibrační závislost různých koncentrací chinoxalinu byla sledována spektrofotometricky v křemenné kyvetě o $l = 1,0$ cm proti deionizované vodě. Roztoky v rozmezí koncentračních řádů 10^{-5} až 10^{-6} mol.L⁻¹ byly připraveny pipetováním příslušných objemů do 10 mL odměrných baněk doplněných deionizovanou vodou. Spektra byla zaznamenávána v rozsahu vlnových délek 190 - 1000 nm. Látka poskytovala dva píky s maximem při vlnových délkách 234 nm a 314 nm.

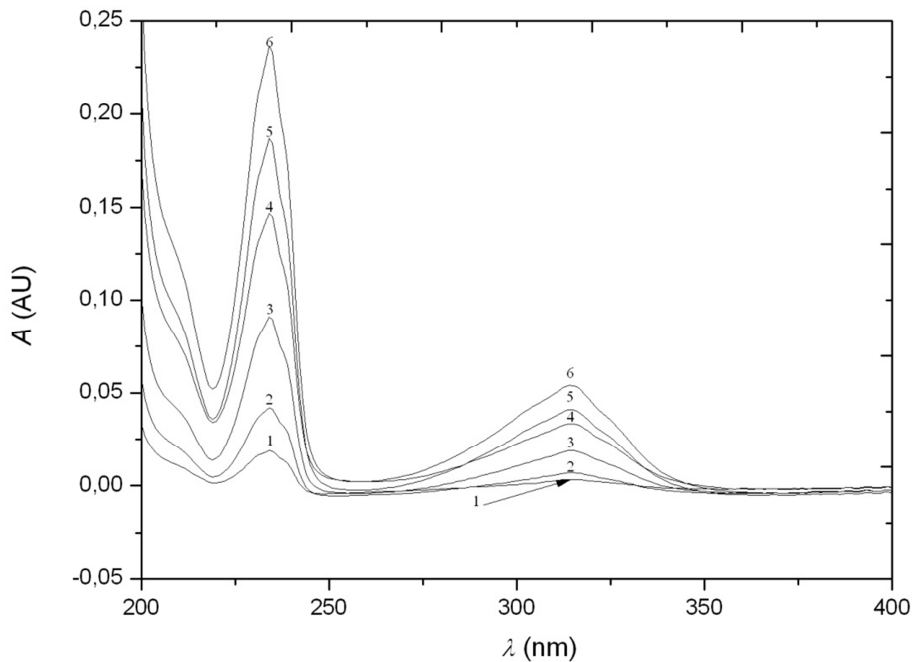
Naměřená spektra a kalibrační křivky řádů 10^{-5} mol.L⁻¹ a 10^{-6} mol.L⁻¹ jsou na obrázcích 33, 34, 35 a 36. Parametry příslušných kalibračních přímek jsou shrnuty v tabulce 7.



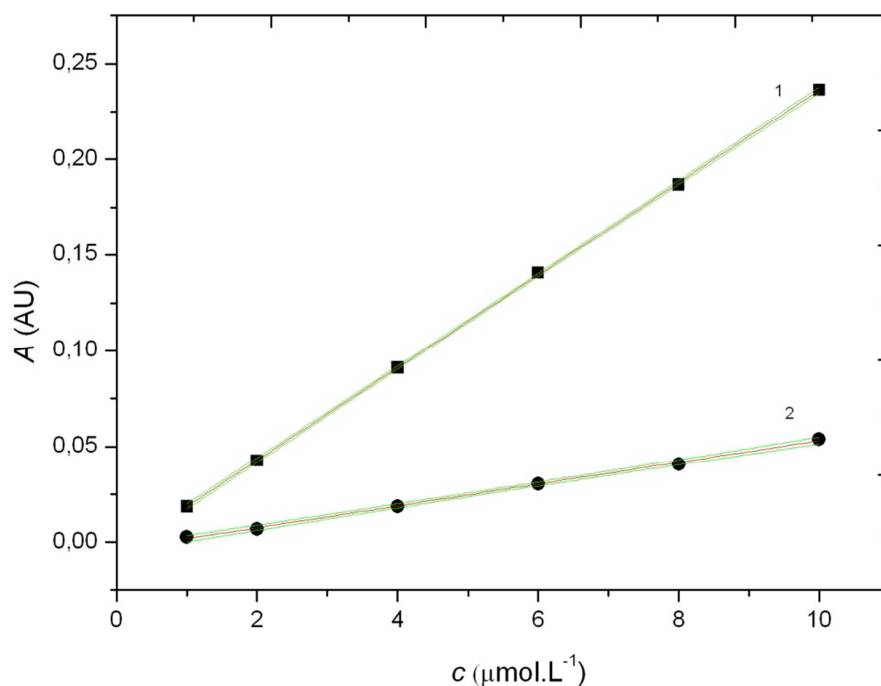
Obr. 33: Absorpční spektra chinoxalinu v deionizované vodě měřené v křemenné kyvetě ($l = 1,0$ cm), měřené v rozmezí vlnových délek 190-1000 nm proti deionizované vodě. Koncentrace chinoxalinu: $1 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (1), $2 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (5) a $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹ (6).



Obr. 34: Závislost absorbance na koncentraci chinoxalinu (řád $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) rozpuštěného v deionizované vodě v křemenné kyvetě ($l = 1,0\text{cm}$), měřené v rozmezí vlnových délek 190–1000 nm proti deionizované vodě. Kalibrační přímka 1 odpovídá vlnové délce 234 nm, přímka 2 odpovídá vlnové délce 314 nm. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).



Obr. 35: Absorpční spektra chinoxalinu v deionizované vodě měřené v křemenné kyvetě ($l = 1,0\text{cm}$), měřené v rozmezí vlnových délek 190–1000 nm proti deionizované vodě. Koncentrace chinoxalinu: $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (1), $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (2), $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (3), $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (4), $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (5) a $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (6).



Obr. 36: Závislost absorbance na koncentraci chinoxalinu (řád 10^{-6} mol.L $^{-1}$) rozpuštěného v deionizované vodě v křemenné kyvetě ($l = 1,0\text{cm}$), měřené v rozmezí vlnových délek 200-1000 nm proti deionizované vodě. Kalibrační přímka 1 odpovídá vlnové délce 234 nm, přímka 2 odpovídá vlnové délce 314 nm. Konfidenční pásy jsou zobrazeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n=5$).

Tabulka 7: Parametry kalibračních přímek pro stanovení chinoxalinu měřené spektrofotometricky vodě v křemenné kyvetě ($l = 1,0\text{cm}$), měřené v rozmezí vlnových délek 200-1000 nm proti deionizované vodě. Rovnice kalibrační křivky: $y = ax + \text{úsek}$.

c (mol.L $^{-1}$)	vlnová délka (nm)	a (AU.L.μmol $^{-1}$)	úsek (AU)	R 2	L $_q$ (μmol.L $^{-1}$)
(1-10).10 $^{-5}$	234	(2,154±0,069).10 $^{-2}$	(8,2±4,2).10 $^{-2}$	0,996	-
	314	(6,12±0,11).10 $^{-3}$	(-1,8±6,5).10 $^{-3}$	0,999	-
(1-10).10 $^{-6}$	234	(2,419±0,010).10 $^{-2}$	(-5,53±0,58).10 $^{-3}$	1,000	0,23
	314	(5,69±0,11).10 $^{-3}$	(-3,85±0,68).10 $^{-3}$	0,998	0,94

5. Závěr

V této bakalářské práci byly nalezeny optimální podmínky pro stanovení chinoxalinu technikami DC voltametrie a diferenční pulzní voltametrie na rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE)

Pro obě metody bylo nalezeno optimální prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o pH 13,0. Rychlost nárůstu potenciálu byla zvolena na 20 mV.s^{-1} . Opakovatelnost měření byla stanovována v optimálním prostředí z dvaceti po sobě jdoucích měření bez vložených a s vloženými regeneračními potenciály. Pro následující stanovení koncentračních závislostí byly zvoleny regenerační potenciály $E_{\text{in}} = -100 \text{ mV}$ a $E_{\text{fin}} = -1800 \text{ mV}$. Relativní směrodatná odchylka při měření opakovatelnosti pro I_p s vloženými regeneračními potenciály byla 0,70 % pro DCV a 0,51 % pro DPV.

Koncentrační závislosti chinoxalinu byly proměřeny v rozmezí $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ technikami DCV a DPV na m-AgSAE. Přes všechny řády byla závislost nelineární, ale bylo ji možno proložit polynomem druhého řádu. Řád $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ by mohl být proložen lineární přímkou, ale s menší přesností než při proložení polynomem druhého řádu. U techniky DPV byla koncentrace $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ z vyhodnocovaného souboru dat vynechána, jelikož výška i plocha píku byla při této koncentraci menší jak výška a plocha píku při koncentraci $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. Byla také naměřena koncentrační závislost chinoxalinu pomocí UV-VIS spektrofotometrie, při které látka ve spektru poskytovala dva píky. Všechny získané hodnoty L_Q jsou shrnuty v tabulce 8

Tabulka 8: Mez detekce chinoxalinu stanovené pro metody DCV, DPV a UV-VIS spektrometri.

metoda	způsob odečtu	$L_Q(\text{mol.L}^{-1})$
DCV	Výška	$8,2 \cdot 10^{-7}$
DPV	Výška	$3,9 \cdot 10^{-7}$
	Plocha	$2,8 \cdot 10^{-7}$
	234 nm	$2,3 \cdot 10^{-7}$
	314 nm	$9,4 \cdot 10^{-7}$

6. Literatura

1. <http://www.sigmaaldrich.com/> staženo 20.8.2013.
2. Cavagnol, J.C.; Wiselogl, F.Y.: 1-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoxalines. *Journal of the American Chemical Society* **69**:4, 795-799 (1947)
3. Chessemann, G.W.H.; Cookson, R.F.: The Chemistry of Heterocyclic Compounds, Condensed Pyrazines. *John Wiley & Sons*, ISBN 0-471-38204-3 (1979)
4. Hamer, J.; Holliday, R. E.: On the Reduction of Quinoxaline. *The Journal of Organic Chemistry* **28**:9, 2488-2488 (1963)
5. Swavey, S. a dalši.: Electron transfer. 143. Reductions of benzopyrazine derivatives with indium(I). *Inorganica Chimica Acta* **306**:1, 65-69 (2000)
6. Strier, M. P.; Cavagnol, J. C.: The polarography of quinoxaline. *Journal of the American Chemical Society* **79**:16, 4331-4335 (1957)
7. Fischer, G. : Vibrational energy dependence of line broadening in the quinoxaline spectrum. *Chemical Physics Letters* **33**:3, 459-462 (1975)
8. Patidar, A. K.; Jeyakandan, M. a dalši: Exploring Potential of Quinoxaline Moiety. *International Journal of PharmTech Research* **3**:1, 386-392 (2011)
9. Carta, A.; Corona, P.; Loriga, M.: Quinoxaline 1,4-dioxide: A versatile scaffold endowed with manifold activities. *Current Medicinal Chemistry* **12**:19, 2259-2272 (2005)
10. Knowles, C. O.: Chemistry and toxicology of quinoxaline, organotin, organofluorine, and formamidine acaricides. *Environmental Health Perspectives* **14**:APR, 93-102 (1976)
11. Vicente, E., a dalši: Quinoxaline 1,4-di-N-oxide derivatives and neglected diseases. *Anales De La Real Academia Nacional De Farmacia* **73**:4, 927-945 (2007)
12. Guillon, J., a dalši: Synthesis, analytical behaviour and biological evaluation of new 4-substituted pyrrolo 1,2-a quinoxalines as antileishmanial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **151**:1, 194-210 (2007)
13. Zarranz, B.; Jaso, A.; Aldana, I.; Monge, A.: Synthesis and antimycobacterial activity of new quinoxaline-2-carboxamide 1,4-di-N-oxide derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **10**:11, 2149-2156(2003)
14. Ortega, M.; Montoya, A. a dalši: Antimycobacterial activity of new quinoxaline-2-carbonitrile and quinoxaline-2-carbonitrile 1,4-di-N-oxide derivatives. *Pharmazie* **56**:3, 205-207 (2001)

15. Harmenberg, J. a další: The mechanism of action of the anti-herpes virus compound 2,3-dimethyl-6-(2-dimethylaminoethyl)-6h-indolo-(2,3-b)quinoxaline. *Antiviral Research* **15**:3, 193-204 (1991)
16. Gris, J. a další: Synthesis of potential chemotherapeutic quinoxalinone derivatives by biocatalysis or microwave-assisted Hinsberg reaction. *Tetrahedron Letters* **49**:6, 1053-1056 (2008)
17. Zqueta, A. a další: Selective toxicity of a quinoxaline 1,4-di-N-oxide derivative in human tumour cell lines. *Arzneimittel-Forschung-Drug Research* **55**:3, 177-182 (2005)
18. Grande, F. a další: Synthesis and antitumor activities of a series of novel quinoxalinhydrazides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **15**:1, 288-294 (2007)
19. Zarranz, B. a další: Synthesis and anticancer activity evaluation of new 2-alkylcarbonyl and 2-benzoyl-3-trifluoromethyl-quinoxaline 1,4-di-N-oxide derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **12**:13, 3711-3721 (2004)
20. Corona, P. a další: Synthesis and in vitro antitumor activity of new quinoxaline derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry* **44**:4, 1579-1591 (2009)
21. Barros, A. a další: Determination of glyoxal, methylglyoxal, and diacetyl in selected beer and wine, by HPLC with UV spectrophotometric detection, after derivatization with o-phenylenediamine. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **22**:13, 2061-2069 (1999)
22. Montenegro, P. a další: Single determination of alpha-ketoglutaric acid and pyruvic acid in beer by HPLC with UV detection. *Journal Article* **3**:5, 1207-1212 (2011)
23. Novotný L.; Yosypchuk B.: Pevné stříbrné amalgámové elektrody. *Chemické listy* **94**:12, 1118-1120 (2000)
24. Yosypchuk B.; Barek J.: Vlastnosti pevných a pastových amalgámových pracovních elektrod odlišné od elektrod z kovové rtuti. *Chemické listy* **103**:4, 284-290 (2009)
25. Vyskočil V.; Daňhel A.; Fischer J. a další: Krása a užitečnost nových elektrodových materiálů. *Chemické listy* **104**:12, 1181-1195 (2010)
26. Barek J.; Fischer J.; Navratil T.; Peckova K.; Yosypchuk B.: Silver Solid Amalgam Electrodes as Sensors for Chemical Carcinogens. *Sensors* **6**:4 445-452 (2006)
27. Bard, A. J.; Faulkner, L.R.: ELECTROCHEMICAL METHODS Fundamentals and Applications. *John Wiley & Sons*, ISBN 0-471-04372-9 (2001)
28. Opekar F.: Základní analytická chemie. *Karolinum*, ISBN 9788024617756 (2010)
29. Miller J.N.; Miller J.C.: Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry. *Person Education* 5.vydání (2005)